

| (51) Int.Cl. ⁷ | 識別記号 | F I | テラトド* (参考) |
|-----------------------------------|------|---------------|------------|
| G 0 1 N 31/20 | | G 0 1 N 31/20 | |
| B 0 1 J 19/00 | | B 0 1 J 19/00 | Z |
| C 1 2 Q 1/04 | | C 1 2 Q 1/04 | |
| 1/25 | | 1/25 | |
| G 0 1 N 33/53 | | G 0 1 N 33/53 | M |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 95 頁) 最終頁に続く | | | |

| | | | |
|---------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願平10-504237 | (71) 出願人 | カリバー テクノロジーズ コーポレイション |
| (96) (22) 出願日 | 平成9年6月24日(1997.6.24) | | アメリカ合衆国 カリフォルニア 94304, |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成10年12月28日(1998.12.28) | | パロ アルト, カリフォルニア アバニュー 1275 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US 97/10894 | (72) 発明者 | バーズ, ジョン ワラス |
| (87) 国際公開番号 | WO 98/00231 | | アメリカ合衆国 カリフォルニア 94304, |
| (87) 国際公開日 | 平成10年1月8日(1998.1.8) | | パロ アルト, ロス ロブレス アバニュー 754 |
| (31) 優先権主張番号 | 08/671,987 | (72) 発明者 | コプファーシル, アン アルル, |
| (32) 優先日 | 平成8年6月28日(1996.6.28) | | アメリカ合衆国 カリフォルニア 94028, |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | | ポートラ バレイ, ミノカ ロード 90 |
| (31) 優先権主張番号 | 08/761,575 | (74) 代理人 | 弁理士 山本 秀策 |
| (32) 優先日 | 平成8年12月6日(1996.12.6) | | |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | | 最終頁に続く |

(54) 【発明の名称】 微小スケール流体装置の高処理能力スクリーニングアッセイシステム

(57) 【要約】

本発明は、高スループットスクリーニングアッセイを実行するために有用な微小流体装置及び方法を提供す。特に、本発明の装置及び方法は、多数の異なる化合物を、様々な化学的、特に生化学的システムに対するそれらの効力についてスクリーニングする際に、有用である。本装置は、基板の表面に形成された、一連のチャネル(110、112)とオプションの試験チャネル(114)とを含む。これらのチャネルの少なくとも一つは、典型的には非常に小さな、例えば約0.1 μm 〜約500 μm の範囲の断面寸法を有している。装置はまた、チャネル(110及び114)の端部に設けられて流体的に接続しているリザーバー(104、106及び108)を含む。図示されるように、サンプルチャネル(112)が、装置に複数の異なるテスト化合物を導入するために使用される。そうであるので、このチャネルは、一般的には、サンプルチャネル(112)及びその後チャネル(110)に個別に導入される多数の個別のテスト化合物のソースに、流体的に接続されている。

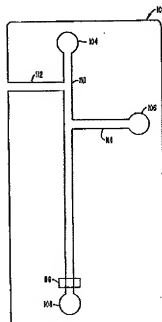


FIG. 1

【特許請求の範囲】

1. 生化学システムに対する効力について、テスト化合物をスクリーニングする装置であって、

そこに形成された少なくとも2つの交差するチャネルを有するボディであって、該少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約0.1〜約500 μm の範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、ボディと、

該少なくとも2つの交差するチャネルの第1のものに流体的に接続されている、複数の異なるテスト化合物のソースと、

該少なくとも2つの交差するチャネルの第2のものに流体的に接続されている、該生化学システムの少なくとも1つの成分のソースと、

該少なくとも1つの成分を該少なくとも2つの交差するチャネルの該第2のものの中を流し、且つ、該異なるテスト化合物を、該少なくとも2つの交差するチャネルの該第1のものから該第2のものへ導入する、流体方向付けシステムと、

該生化学システムに対する該テスト化合物の効力を検出する、該第2のチャネルにおける検出ゾーンと、
を備える、装置。

2. 前記流体方向付けシステムが、前記少なくとも2つの交差するチャネルの前記第2のものに沿って、前記少なくとも第1の成分の連続的な流れを発生させ、且つ、テスト化合物を前記第1のチャネルから前記第2のチャネルへ一定間隔で注入する、請求項1に記載の装置。

3. 前記生化学システムの第2の成分のソースと、前記ボディの中に形成された第3のチャネルと、を更に備えており、該第3のチャネルが、前記少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方を、該生化学システムの該第2の成分の該ソースによって流体的に接続させる、請求項1に記載の装置。

4. 前記流体方向付けシステムが、前記少なくとも2つの交差するチャネルの前

記第2のものに沿って、前記第1の成分と前記第2の成分との混合物の連続的な流れを発生させ、且つ、テスト化合物を前記第1のチャネルから前記第2のチャネルへ一定間隔で注入する、請求項3に記載の装置。

5. 前記流体方向付けシステムが、前記少なくとも2つの交差するチャネルの前記第1のものから前記第2のものへ、前記複数の異なるテスト化合物を連続的に流し、該複数の異なるテスト化合物の各々は流体スベアサによって分離されている、請求項1に記載の装置。

6. 前記流体方向付けシステムは、

少なくとも3つの電極であって、該電極の各々が、前記少なくとも2つの交差するチャネルによって形成される交差点の異なる側の該少なくとも2つの交差するチャネルに電気的に接触している、電極と、

可変電圧を該電極の各々に同時に印加して、それによって、該少なくとも2つの交差するチャネルの中の前記テスト化合物或いは前記少なくとも第1の成分の動きを制御する、制御システムと、
を備える、請求項1に記載の装置。

7. 前記検出システムが、前記第2のチャネルにおける検出意を含む、請求項1に記載の装置。

8. 前記検出システムが蛍光検出システムである、請求項7に記載の装置。

9. 前記ボディが、前記少なくとも2つのチャネルがエッチングされている第1のガラス基板を、該第1のガラス基板にエッチングされた該少なくとも2つのチャネルの上を覆う第2のガラス基板に、熱ラミネートすることによって形成されている、請求項1に記載の装置。

10. 前記ボディがエッチングされたガラスを備えている、請求項1に記載の装

置。

11. 前記ボディがエッチングされたシリコンを備えている、請求項1に記載の装置。

12. 前記エッチングされたシリコン基板の上に配置された絶縁層を更に備えている、請求項11に記載の装置。

13. 前記ボディがモールドされたポリマを備えている、請求項1に記載の装置。

14. 前記生化学システムの前記少なくとも一つの成分が、酵素と、該酵素と反

応すると検出可能なシグナルを生成する酵素基質と、を備えている、請求項1に記載の装置。

15. 前記酵素基質が、発光性及び蛍光性の酵素基質からなるグループから選択されたものである、請求項14に記載の装置。

16. 前記生化学システムの前記少なくとも第1の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタ或いはリガンドの少なくとも一方は、それに関連した検出可能なシグナルを有している、請求項1に記載の装置。

17. 前記生化学システムの前記第1の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタの該リガンドへの結合が検出可能なシグナルを生成する、請求項1に記載の装置。

18. 前記装置が、前記交差するチャネルの一つ或いはそれ以上に流体的に接続された複数のリザーバーにおける複数の電極と、該電極の各々に電圧を同時に印加する制御システムと、を更に備えており、それによって、前記少なくとも2つの交差しているチャネルにおける前記第1の成分の動きを制御する、請求項1に記載の装置。

19. 前記装置は、前記リザーバー或いは前記交差しているチャネルに存在している化学種の劣化を最小限にする、請求項18に記載の装置。

20. 前記装置は、

前記電極の1つ或いはそれ以上におけるフリットであって、該1つ或いはそれ以上の電極に向かう電気浸透性の流れを低減させる、フリットと、

前記少なくとも2つのリザーバーの間の大きなチャネルであって、該化学種の拡散を制限する、低い電気浸透性の流れを有する、大きなチャネルと、

該少なくとも2つのリザーバーの間の狭いチャネルであって、該化学種の拡散を制限し、電気浸透性の流れを低減するように処理された、狭いチャネルと、

該少なくとも2つのリザーバーの間の満たされたチャネルであって、該満たされたチャネルを通る該化学種の輸送を制限するマトリクスを備え、それによって低い電気浸透性の流れを有する、満たされたチャネルと、

少なくとも1つの低いリザーバーよりも高い流体レベルを有する高いリザーバーで

あって、該高いリザーバーは該低いリザーバーに流体的に接続しており、該低いリザーバーは電極を備え、該高いリザーバーと該低いリザーバーとの間の流体圧力は、該電極に向かう電気浸透性流れを低減させる、高いリザーバーと、

該複数の電極の一つを受け取るように形成された狭い直径の第2のリザーバーに接続チャネルを通じて流体的に接続されている第1のリザーバーを有する2重リザーバーシステムであって、該狭い直径の第2のリザーバーは、該1つの電極に向けて毛管電気泳動によって流体を引き出すように形成され、それによって該接続チャネルにおける電気浸透性の流れに対向する、2重リザーバーシステムと、
からなるグループから選択された、電気浸透性の流れを低減させる1つ或いはそれ以上の要素を更に備えている、請求項19に記載の装置。

21. 生化学システムに対するテスト化合物の効力を検出する装置であって、
そこに形成された複数の反応チャネルを有するボディと、

そこに形成された少なくとも2つの横方向チャネルであって、該複数の反応チャネルの各々が、該少なくとも2つの横方向チャネルの第1のものに該反応チャネルの第1の点で流体的に接続し、且つ、該少なくとも2つの横方向チャネルの第2のものに該反応チャネルの第2の点で流体的に接続し、該少なくとも2つの横方向チャネルと該複数の反応チャネルとが、各々、約0.1～約500 μm の範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、少なくとも2つの横方向チャネルと、

該生化学システムの少なくとも1つの成分のソースであって、該複数の反応チャネルの各々に流体的に接続されている、ソースと、

該少なくとも2つの横方向チャネルの該第1のものに流体的に接続されている、テスト化合物のソースと、

該少なくとも2つの横方向チャネル及び該複数の反応チャネルの中での該テスト化合物及び該少なくとも1つの成分の動きを制御する、流体方向付けシステムと、

該生化学システムに対する該テスト化合物の効力を検出する、検出システムと、

を備える、装置。

22. 前記流体制御システムは、

複数の独立した電極であって、各々が、前記少なくとも2つの横方向チャンネルの各端部に電気的に接続している、電極と、

可変電圧を該電極の各々に同時に印加して、それによって、該少なくとも2つの横方向チャンネル及び該複数の反応チャンネルの中の前記テスト化合物或いは前記少なくとも第1の成分の動きを制御する、制御システムと、
を備える、請求項21に記載の装置。

23. 前記複数の反応チャンネルの各々が、該複数の反応チャンネルにおける前記第1の点に、ビード配置ウェルを備える、請求項21に記載の装置。

24. 生化学システムの前記少なくとも1つの成分の前記ソースが、第3の横方

向チャンネルによって前記複数の反応チャンネルに流体的に接続しており、該第3の横方向チャンネルが、0.1~500 μm の範囲の少なくとも1つの断面寸法を有し、且つ該複数の反応チャンネルの各々に、該反応チャンネルにおける第3の点で流体的に接続している、請求項21に記載の装置。

25. 前記反応チャンネルにおける前記第3の点、該反応チャンネルにおける前記第1及び第2の点の間である、請求項21に記載の装置。

26. 前記複数の反応チャンネルの各々において、該複数の反応チャンネルの前記第3及び第2の点の間に、粒子保持ゾーンを更に備える、請求項25に記載の装置。

27. 前記粒子保持ゾーンが粒子保持マトリクスを備える、請求項26に記載の装置。

28. 前記粒子保持ゾーンが微構造フィルタを備える、請求項26に記載の装置。

29. 前記複数の反応チャンネルが、前記ボディに形成された複数の平行反応チャンネルを備えており、前記少なくとも2つの横方向チャンネルが、該平行反応チャンネルの各々の両端に接続されている、請求項21に記載の装置。

30. 前記少なくとも2つの横方向チャンネルは、前記基板の前記表面に内側及び

外側同心状チャネルとして形成されており、前記複数の反応チャネルは、該内側同心状チャネルから該外側同心状チャネルに放射状に延びている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 1. 前記検出システムが、前記第 2 のチャネルにおける検出窓を含む、請求項 3 0 に記載の装置。

3 2. 前記検出システムが蛍光検出システムである、請求項 3 0 に記載の装置。

3 3. 前記ボディが、前記少なくとも 2 つの横方向チャネルがエッチングされている第 1 のガラス基板を、該第 1 のガラス基板にエッチングされた該少なくとも 2 つの横方向チャネルの上を覆う第 2 のガラス基板に、熱ラミネートすることによって形成されている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 4. 前記ボディがエッチングされたガラスを備えている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 5. 前記ボディがエッチングされたシリコンを備えている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 6. 前記エッチングされたシリコン基板の上に配置された絶縁層を更に備えている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 7. 前記ボディは、前記少なくとも 2 つの横方向チャネルがエッチングされている第 1 のポリマ基板からモールドされていて、該ボディは、該第 1 のポリマ基板にラミネートされた第 2 の基板を更に備えている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 8. 前記生化学システムの前記少なくとも一つの成分が、酵素と、該酵素と反応すると検出可能なシグナルを生成する酵素基質と、を備えている、請求項 2 1 に記載の装置。

3 9. 前記酵素基質が、発光性及び蛍光性の基質からなるグループから選択されたものである、請求項 3 8 に記載の装置。

4 0. 前記生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分は、レセプタ／リガンド結合対を備えており、該レセプタ或いはリガンドの少なくとも一方は、それに関連した検出可能なシグナルを有している、請求項 2 1 に記載の装置。

4 1. 前記生化学システムの前記第 1 の成分は、レセプタ／リガンド結合対を備えており、該レセプタの該リガンドへの結合が検出可能なシグナルを生成する、請求項 2 1 に記載の装置。

4 2. サンプルが生化学システムに影響を与えることができる化合物を含んでいるかどうかを判定する方法であって、

そこに形成された少なくとも 2 つの交差するチャネルを有するボディ構造を備える微小流体装置を設ける工程であって、該少なくとも 2 つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約 0. 1 ～約 5 0 0 μ m の範囲の少なくとも 1 つの断面寸法を有している、工程と、

生化学システムの第 1 の成分を、該少なくとも 2 つの交差するチャネルの第 1 のものに流す工程と、

該サンプルを、第 2 のチャネルから第 1 のチャネルに流し、それによって、該サンプルを該生化学システムの該第 1 の成分に接触させる工程と、

該少なくとも 1 つのサンプルの該生化学システムに対する効力を検出する工程と、

を包含する、方法。

4 3. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が、抗体／抗原結合対の少なくとも一方のメンバを備えており、該抗体が該抗原に特に免疫反応的である、請求項 4 2 に記載の方法。

4 4. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が、抗体と、該抗体に特に反応する抗原と、を備えている、請求項 4 2 に記載の方法。

4 5. 前記抗体或いは前記抗原の一つが検出可能な標識グループを備えている、請求項 4 2 に記載の方法。

4 6. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が、レセプタ／リガンド結合

対の少なくとも一方のメンバを備えている、請求項 4 2 に記載の方法。

4 7. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が、レセプタと、該レセプタに特に結合するリガンドと、を備えている、請求項 4 2 に記載の方法。

4 8. 前記サンプルが患者に由来する、請求項 4 2 に記載の方法。

49. 前記サンプルが血液に由来する、請求項48に記載の方法。
50. 前記検出工程は、前記サンプルの存在時及び不在時の前記生化学システムのパラメータを測定する工程と、該サンプルの存在時の該測定されたパラメータを該サンプルの不在時の該測定されたパラメータと比較する工程と、を含み、該パラメータの変化が、該サンプルが該生化学システムに対する効力を有することを示す、請求項42に記載の方法。
51. 生化学システムに対する効力について、テスト化合物をスクリーニングする装置であって、
そこに形成された少なくとも2つの交差するチャネルを有するボディであって、該少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約0.1〜約500 μm の範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、ボディと、
該少なくとも2つの交差するチャネルの第1のものに流体的に接続されている、サンプルのソースと、
該少なくとも2つの交差するチャネルの第2のものに流体的に接続されている、該生化学システムの少なくとも1つの成分のソースと、
該少なくとも1つの成分を該少なくとも2つの交差するチャネルの該第2のものの中に流し、且つ、該サンプルを、該少なくとも2つの交差するチャネルの該第1のものから該第2のものへ導入する、流体方向付けシステムと、
該生化学システムに対する該サンプルの効力を検出する、該第2のチャネルにおける検出ゾーンと、

を備える、装置。

52. 生化学システムに対する効力について、複数のテスト化合物をスクリーニングする方法であって、
そこに形成された少なくとも2つの交差するチャネルを有するボディを設ける工程であって、該少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約0.1〜約500 μm の範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、工程と、
生化学システムの第1の成分を、該少なくとも2つの交差するチャネルの第1のものに流す工程と、

少なくとも第1のテスト化合物を、第2のチャネルから第1のチャネルに渡し、それによって、該第1のテスト化合物を該生化学システムの該第1の成分に接触させる工程と、

該少なくとも第1のテスト化合物の該生化学システムに対する効力を検出する工程と、

を包含する、方法。

53. 生化学システムの前記少なくとも第1の成分が、該生化学システムの機能を示す検出可能なシグナルを生成する、請求項52に記載の方法。

54. 前記少なくとも第1の成分が、該第1の成分に相互作用して該生化学システムの機能を示す検出可能なシグナルを生成するインディケータ化合物を更に備える、請求項52に記載の方法。

55. 生化学システムの前記第1の成分が、酵素と、該酵素に対する基質と、を備えており、該基質の上で該酵素の作用が検出可能なシグナルを生成する、請求項52に記載の方法。

56. 生化学システムの前記第1の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタ或いはリガンドの少なくとも一方は、それに関連した検出可能

なシグナルを有している、請求項52に記載の方法。

57. 生化学システムの前記第1の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタの該リガンドへの結合が検出可能なシグナルを生成する、請求項52に記載の方法。

58. 生化学システムの前記少なくとも第1の成分は生物学的バリアであり、前記少なくとも第1のテスト化合物の前記効力は、該テスト化合物が該バリアを損切る能力である、請求項52に記載の方法。

59. 前記バリアは、上皮層或いは内皮層である、請求項58に記載の方法。

60. 生化学システムの前記少なくとも第1の成分は、細胞を備えており、前記検出工程は、前記テスト化合物の前記細胞への効力を判定する工程を含む、請求項52に記載の方法。

61. 前記細胞は、細胞機能に対応した検出可能なシグナルを生成する能力を有

しており、前記検出工程は、該検出可能なシグナルのレベルを検出することによって、該細胞機能に対する前記テスト化合物の効力を検出する工程を含む、請求項60に記載の方法。

62. 生化学システムに対する効力について、複数のテスト化合物をスクリーニングする方法であって、

そこに形成された少なくとも2つの交差するチャネルを有するボディを設ける工程であって、該少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約0.1〜約500 μ mの範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、工程と、生化学システムの第1の成分を、該少なくとも2つの交差するチャネルの第1のものに連続的に流す工程と、

異なるテスト化合物を、該少なくとも2つの交差する第2のチャネルから該第

1のチャネルに周期的に導入する工程と、

生化学システムの該少なくとも第1の成分に対するテスト化合物の効力を検出する工程と、

を包含する、方法。

63. 生化学システムに対する効力について、複数のテスト化合物をスクリーニングする方法であって、

少なくとも第1の表面と、該第1の表面に形成された少なくとも2つの交差するチャネルと、を有する基板を設ける工程であって、該少なくとも2つの交差するチャネルの少なくとも一方が、約0.1〜約500 μ mの範囲の少なくとも1つの断面寸法を有している、工程と、

生化学システムの第1の成分を、該少なくとも2つの交差するチャネルの第1のチャネルに連続的に流す工程と、

異なるテスト化合物を、該少なくとも2つの交差するチャネルの第2のチャネルから該第1のチャネルに周期的に導入する工程と、

生化学システムの該少なくとも第1の成分に対する該テスト化合物の効力を検出する工程と、

を包含する、方法。

6 4. 前記周期的導入工程が、複数の異なるテスト化合物を、前記少なくとも 2 つの交差するチャネルの第 2 のチャネルから該第 1 のチャネルに流す工程を含み、該複数の異なるテスト化合物の各々は、該複数の異なるテスト化合物の各々から物理的に隔離されている、請求項 6 3 に記載の方法。

6 5. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分は、該生化学システムの機能を示す検出可能なシグナルを生成する、請求項 6 3 に記載の方法。

6 6. 前記検出工程は、前記検出可能なシグナルを、前記連続的に流れる第 1 の成分から前記第 1 のチャネルの点にてモニタする工程を含み、該検出可能なシグ

ナルは定常状態強度を有しており、該第 1 の成分と前記テスト化合物との間の前記相互作用の前記効力が、該検出可能なシグナルの該定常状態強度からのずれを備えている、請求項 6 5 に記載の方法。

6 7. 前記少なくとも第 1 の成分が、該第 1 の成分に相互作用して該生化学システムの機能を示す検出可能なシグナルを生成するインディケータ化合物を更に備える、請求項 6 5 に記載の方法。

6 8. 生化学システムの前記第 1 の成分が酵素を備えており、前記インディケータ化合物が該酵素に対する基質を備えており、該基質の上で該酵素の作用が検出可能なシグナルを生成する、請求項 6 7 に記載の方法。

6 9. 生化学システムの前記第 1 の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタ或いはリガンドの少なくとも一方は、それに関連した検出可能なシグナルを有している、請求項 6 5 に記載の方法。

7 0. 前記レセプタ及び前記リガンドは、前記第 1 のチャネルに沿って異なったレートで流れる、請求項 6 9 に記載の方法。

7 1. 生化学システムの前記第 1 の成分は、レセプタ/リガンド結合対を備えており、該レセプタの該リガンドへの結合が検出可能なシグナルを生成する、請求項 6 5 に記載の方法。

7 2. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が細胞を備えており、前記検出工程は、前記テスト化合物の前記細胞への効力を判定する工程を含む、請求項 6 3 に記載の方法。

7 3. 前記細胞は、細胞機能に対応した検出可能なシグナルを生成する能力を有しており、前記検出工程は、該検出可能なシグナルのレベルを検出することによ

って、該細胞機能に対する前記テスト化合物の効力を検出する工程を含む、請求項7 2に記載の方法。

7 4. 前記検出工程は、前記細胞の生存能力に対する前記テスト化合物の効力を検出する工程を含む、請求項7 2に記載の方法。

7 5. 生化学システムに対する効力について、複数の異なるテスト化合物をスクリーニングする方法であって、

そこに形成された複数の反応チャネルを有するポディを設ける工程であって、該複数の反応チャネルの各々は、該基板に形成された少なくとも2つの横方向チャネルに流体的に接続されている、工程と、

生化学システムの少なくとも第1の成分を、該複数の反応チャネルに導入する工程と、

複数の異なるテスト化合物を、該少なくとも2つの横方向チャネルの少なくとも一つを通して流す工程であって、該複数のテスト化合物の各々は、該少なくとも一つの横方向チャネルに別個の対象物質領域にて導入される、工程と、

該複数の異なるテスト化合物の各々を該複数の反応チャネルの別個の一つに方向付ける工程と、

該生化学システムの該少なくとも一つの成分に対する該テスト化合物の各々の効力を検出する工程と、

を包含する、方法。

7 6. 前記生化学システムの前記少なくとも第1の成分が、該生化学システムの機能を示す、流れることが可能で検出可能なシグナルを生成する、請求項7 5に記載の方法。

7 7. 前記複数の反応チャネルの各々で生成された前記検出可能で流れることが可能なシグナルが、前記第2の横方向チャネルに流入し且つそこを流れて、該複数の反応チャネルの各々で生成された該検出可能で流れることが可能なシグナル

ナルの各々が、該検出可能で流れることが可能なシグナルの各々から物理的に隔離されていて、それによって、該検出可能で流れることが可能なシグナルの各々が別個に検出される、請求項 7 6 に記載の方法。

7 8. 前記流れることが可能なシグナルが溶性シグナルを備える、請求項 7 6 に記載の方法。

7 9. 前記溶性シグナルが蛍光或いは顔色シグナルから選択されている、請求項 7 8 に記載の方法。

8 0. 前記少なくとも第 1 の成分が、該第 1 の成分に相互作用して前記生化学システムの機能を示す検出可能なシグナルを生成するインディケータ化合物を更に備える、請求項 7 5 に記載の方法。

8 1. 生化学システムの前記第 1 の成分が酵素を備えており、前記インディケータ化合物が該酵素に対する基質を備えており、該基質の上で該酵素の作用が検出可能なシグナルを生成する、請求項 8 0 に記載の方法。

8 2. 生化学システムの前記第 1 の成分は、レセプタ／リガンド結合対を備えており、該レセプタ或いはリガンドの少なくとも一方は、それに関連した検出可能なシグナルを有している、請求項 7 6 に記載の方法。

8 3. 生化学システムの前記第 1 の成分は、レセプタ／リガンド結合対を備えており、該レセプタの該リガンドへの結合が検出可能なシグナルを生成する、請求項 7 6 に記載の方法。

8 4. 生化学システムの前記少なくとも第 1 の成分が細胞を備えており、前記検出工程は、前記テスト化合物の前記細胞への効力を判定する工程を含む、請求項 7 5 に記載の方法。

8 5. 前記細胞は、細胞機能に対応した検出可能なシグナルを生成する能力を有しており、前記検出工程は、該検出可能なシグナルのレベルを検出することによって、該細胞機能に対する前記テスト化合物の効力を検出する工程を含む、請求項 8 4 に記載の方法。

8 6. 前記検出工程は、前記細胞の生存能力に対する前記テスト化合物の効力を検出する工程を含む、請求項 8 5 に記載の方法。

87. 前記複数の異なるテスト化合物の各々は、個別のビードの上で固定されており、前記複数の異なるテスト化合物の各々を前記複数の反応チャネルの別個の一つに方向付ける工程は、

前記第1の横方向チャネルと前記複数の反応チャネルの各々との交差点で、該別個のビードの一つを留める工程と、

該別個のビードの各々から該複数の反応チャネルの各々へ、該テスト化合物を制御可能に放出する工程と、

を含む、請求項75に記載の方法。

88. 複数のテスト化合物の各々の生化学システムに対する効力をテストするための、第1のチャネルと該第1のチャネルに交差する第2のチャネルとを有する第1の基板を少なくとも含み、該チャネルの少なくとも一つが0.1~500 μ mの範囲の少なくとも一つの断面寸法を有している、微小流体システムの使用。

89. 前記生化学システムが、前記チャネルの一つを実質的に連続的に流れて、前記複数のテスト化合物の連続的なテストを可能にする、請求項88に記載の使用。

90. 前記第1の基板における複数の反応チャネルの設置が、複数のテスト化合物の少なくとも一つの生化学システムへの平行な露出を可能にする、請求項8

8 或いは89に記載の使用。

91. 各テスト化合物が隣接するテスト化合物から物理的に孤立している、請求項88、89、或いは90のいずれかに記載の使用。

92. 交差するチャネルを有する基板の、テスト材料と生化学システムとを該チャネルを使用して一緒に流すことによって該テスト材料の該生化学システムへの効力をスクリーニングする際における、使用。

93. 前記チャネルの少なくとも一つが0.1~500 μ mの範囲の少なくとも一つの断面寸法を有している、請求項92に記載の使用。

94. 請求項88~93の何れか一つの使用を利用した、アッセイ。

【発明の詳細な説明】

微小スケール流体装置の高処理能力スクリーニングアッセイシステム

関連出願への相互参照

本発明は、1996年6月28日に出願された米国特許出願第08/671,987号および1996年12月6日に出願された米国特許出願第08/761,575号の部分継続出願であり、各出願の内容は、全ての目的上、その全体について、本明細書中で参考として援用されている。米国特許出願、弁理士整理番号第017646-0004200号は、本願と実質的に同じであるが、1997年6月24日に、米国特許庁に共に出願された。この出願の内容もまた、本明細書中で参考として援用されている。

発明の分野

本願は、分子相互作用を検出するための装置およびアッセイシステムに関する。この装置は、1個またはそれ以上の交差チャネルを有する基板および電気浸透性の流体運動成分、またはこの基板上のチャネル内で流体を移動させる他の成分を包含する。

発明の背景

種々の生体過程に対する効果について、化合物を急速にアッセイする能力が、長く必要とされている。例えば、酵素学者は、酵素反応のための良好な基質、良好な阻害剤または良好な触媒を、長きにわたって捜している。同様に、製薬工業では、生体分子間の相互作用を阻害し、低下させまたは向上できる化合物を同定することが、注目されている。具体的には、生体システムでは、受容体とその配位子との間の相互作用の結果、しばしば、直接的またはある種の下流事象を介して、そのシステムに、そして結果的に、治療を求めている患者に、有害なまたは有益な効果が得られることがある。従って、研究者は、長きにわたって、その相互作用を低下させ、阻害または向上できる化合物または化合物の混合物を捜している。同様に、診断上または法医学上の分析に関連して、生体分子の検出用の試料を急速に処理する能力は、例えば、診断医学、考古学、人類学、および現代

の犯罪捜査に、基本的に有益である。

現代の薬剤発見は、これらの記述の効果を有する化合物をスクリーニングする

のに使用するアッセイの処理能力により、制限されている。特に、最大数の異なる化合物のスクリーニングには、各スクリーニングに付随した時間および労力の必要条件を低減する必要がある。

化学的に合成した分子および天然産物（例えば、微生物発酵プロセス）の採取物の高処理能力スクリーニングは、それゆえ、新規な薬理学的試薬の開発のための主要化合物の研究において、中心的な役割を果たしている。分子多様性を作り出して評価するための組合せ化学およびそれに付随した技術に対する関心の著しい高まりは、薬剤発見の現状の進化過程における重要な段階を体现している。Pavlaら、1993、*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **3**: 387~396を参照せよ（その内容は、本明細書中で参考として援用されている）。今まで、ペプチド化学は、配位子同定において、組合せ法の有用性を探求する重要な媒体であった。Jung & Back-Sickingler、1992、*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **31**: 367~383を参照せよ（その内容は、本明細書中で参考として援用されている）。このことは、広範囲の構造的に異なるアミノ酸モノマーの利用可能性、比較的一般的な高収率の固相カップリング化学、および組合せペプチドライブラリーを生じる生体手法との相乗作用のためであり得る。さらに、多くの低分子ペプチドの強力な特定の生体活性により、これらの分子は、治療薬の開発の魅力的な出発点となる。Hirschmann、1991、*Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **30**: 1278~1301、およびWiley & Rich、1993、*Med. Res. Rev.*, **13**: 327~384を参照せよ（これらの各内容は、本明細書中で参考として援用されている）。好ましくない薬理動力学特性（例えば、乏しい経口生体利用能およびインビボでの急速なクリアランス）により、しかしながら、薬剤としてのペプチド化合物のさらに広範な開発が制限されている。このことを理解することにより、最近では、研究者は、ペプチド化学の範囲を超えて、組合せ有機合成の概念を拡張して、ペントジアゼピンのような公知のフルマロコフォア（Bunin & Ellman、1992、*J. Amer. Chem. Soc.*, **114**: 10997~10998を参照せよ：その内容は、本明細書中で参考として援用されている）だけでなく、オリゴマー性N-置換グリシン（「ペプチド」）およびオリゴカーバメートのような重合

体分子のライブラリを作成するように聚り立てられている。Simonら、1992、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:9367-9371; Zuckermannら、1992、*J. Amer. Chem. Soc.* 114:10646-10647; およびChoら、1993、*Science* 261:1303-1305を参照せよ。これらの各内容は、本明細書中で参考として援用されている。

類似の開発では、現代の組合せ化学の結果、スクリーニングできるテスト化合物の数が飛躍的に増加するにつれて、ヒトゲノム研究もまた、多数の新規な標的分子（例えば、遺伝子および遺伝子産物（例えば、タンパク質およびRNA））が明らかにされ、それに対して、テスト化合物の効能がスクリーニングされている。

平行スクリーニング法および他の技術的な進歩（例えば、ロボット工学および高処理能力検出システム）を用いて得られる改良にもかかわらず、現在のスクリーニング法は、依然として、多くの付随する問題がある。例えば、現存する平行スクリーニング法を用いて、多数の試料をスクリーニングするには、試料および装置に適合させた非常な空間的必要条件（例えば、ロボット工学）、その装置に付随する高コスト、およびこれらのアッセイを行うのに必要な高い試薬要件がある。加えて、多くの場合には、利用できる少量のテスト化合物を考慮して、反応容量は、非常に小さくなくてはならない。このような少量の化合物は、流体の取扱いおよび測定に付随したエラー（例えば、蒸発、僅かな調剤エラーなどによる）が生じる。加えて、流体取扱い装置および方法は、典型的には、一部には、このような少量容量における表面張力のために、適当なレベルの精度では、これらの容量範囲を取り扱うことができない。

これらの問題に向けたシステムの開発は、そのアッセイ過程の種々の局面を考慮しなければならない。このような局面には、標的および化合物のソース、テスト化合物および標的の取扱い、特定のアッセイ要件、およびデータ入手、縮小保存および分析が挙げられる。特に、繰り返して正確なアッセイスクリーニングを行いそして非常に小容量で操作できる高処理能力スクリーニング法および付随した設備および装置が必要とされている。

本発明は、これらの必要性および種々の他の必要性に合っている。特に、本発明は、これらの問題に対する有意義な解決法を検討しそして提供するスクリーニ

ングアッセイを行う新規な方法および装置を提供する。

発明の要旨

本発明は、生化学システムに対する効果について、複数のテスト化合物をスクリーニングする方法を提供する。これらの方法は、典型的には、少なくとも第1表面を有する微小作製基板、およびこの第1表面に作製した少なくとも2個の交差チャネルを使用する。これらの交差チャネルの少なくとも1個は、 $0.1\sim 500\mu\text{m}$ の少なくとも1個の断面寸法を有する。これらの方法は、生化学システムの第1成分を、少なくとも2個の交差チャネルの第1のものに流すことを包含する。少なくとも、第1テスト化合物を、第2チャネルから第1チャネルへと流し、それにより、このテスト化合物は、この生化学システムの第1成分と接触する。次いで、この生化学システムに対するこのテスト化合物の効果が検出される。

関連した局面では、この方法は、生化学システムの第1成分を、少なくとも2個の交差チャネルの第1チャネルに流すことを包含する。異なるテスト化合物は、定期的に、第2チャネルから第1チャネルへと導入される。次いで、この生化学システムに対するこのテスト化合物の効果は、もしあれば、検出される。

別の局面では、この方法は、その第1表面に作製した複数の反応チャネルと共に第1表面を有する基板を使用する。この複数の反応チャネルのそれぞれは、この表面にまた作製された少なくとも2個の横断チャネルと流動接続されている。生化学システムの少なくとも第1成分は、この複数の反応チャネルに導入され、複数の異なるテスト化合物は、この少なくとも2個の横断チャネルの少なくとも1個を流れて流れる。さらに、この複数のテスト化合物のそれぞれは、別々の容量で、この横断チャネルに導入される。この複数の異なるテスト化合物のそれぞれは、別個の反応チャネルに導かれ、次いで、この生化学システムに対するこの各テスト化合物の効果が検出される。

本発明はまた、上記方法を実施する装置を提供する。1局面では、本発明は、生化学システムに対する効果について、テスト化合物をスクリーニングするための装置を提供する。この装置は、その表面に作製した少なくとも2個の交差チャネルと共に少なくとも1個の表面を有する基板を包含する。この少なくとも2個

の交差チャネルは、約0.1〜約500 μ mの範囲の少なくとも1個の断面寸法を有す

る。この装置はまた、これらの少なくとも2個の交差チャネルの第1のものに接続した異なるテスト化合物のソース、およびこれらの少なくとも2個の交差チャネルの第2のものに流動接続した生化学システムの少なくとも1個の成分のソースを包含する。また、この少なくとも1個の成分を、この交差チャネル内に流し、これらの交差チャネルの第1のものから第2のものへと、異なるテスト化合物を導入するための流体方向システムもまた、包含される。この装置はまた、必要に応じて、第2チャネル内にて、該生化学システムに対する該テスト化合物の効果を検出する検出ゾーンも包含する。

好ましい局面では、本発明の装置は、少なくとも3個の電極を含む流体検出システムを包含し、各電極は、少なくとも2個の交差チャネルにより形成した交差の異なる部位にて、少なくとも2個の交差チャネルと電気接触している。この流体検出システムはまた、各電極に可変電圧を同時に印加する制御システムを包含し、それにより、これらの少なくとも2個の交差チャネルにおけるこのテスト化合物または少なくとも第1成分の移動は、制御される。

他の局面では、本発明は、生化学システムに対するテスト化合物の効果を検出する装置を提供し、この装置は、その表面に作製した複数の反応チャネルと共に少なくとも1個の表面を有する基板を包含する。この装置はまた、その表面に作製した少なくとも2個の横断チャネルを有し、ここで、この複数の反応チャネルのそれぞれは、これらの各反応チャネルの第1点にて、これらの少なくとも2個の横断チャネルの第1のものとは流動接続しており、そしてこれらの各反応チャネルの第2点にて、第2の横断チャネルと流動接続している。この装置は、さらに、これらの各反応チャネルに流動接続した生化学システムの少なくとも1個の成分のソース、これらの横断チャネルの第1のものに流動接続したテスト化合物のソース、およびこの横断チャネルおよび複数の反応チャネル内でのこのテスト化合物および第1成分の移動を制御する流体方向システムを包含する。上記のように、これらの装置はまた、必要に応じて、第2横断チャネル内にて、該生化学システムに対する該テスト化合物の効果を検出する検出ゾーンも包含する。

図 1 は、本発明の微小実験用のスクリーニングアッセイシステムの 1 実施態様の模式図であり、これは、連続流アッセイシステムを操作するのに使用できる。

図 2 A および 2 B は、交互アッセイシステムで操作する、図 1 で示した装置の模式図を示す。図 2 A は、酵素-基質相互作用の作動体をスクリーニングするのに使用されるシステムを示す。図 2 B は、受容体-配位子相互作用の作動体をスクリーニングする際のこの装置の使用を示す。

図 3 は、「連続入力平行反応」微小実験用のアッセイシステムの模式図であり、ここで、スクリーニングする成分は、この装置に連続的に導入されるが、次いで、この装置内にて、平行配向でスクリーニングされる。

図 4 A ~ 4 F は、ビードベースの複数のテスト化合物をスクリーニングする際の、図 3 に示した装置の操作の模式図を示す。

図 5 は、分離工程に続いて延長インキュベーションを行うための試料分路を組み込んだアッセイ装置の模式図を示す。

図 6 A は、流体ベースのテスト化合物を使用する連続入力平行反応装置の模式図を示す。図 6 B および 6 C は、図 6 A に示した装置内の流体流動パターンの模式図を示す。

図 7 は、全アッセイシステムの 1 実施態様の模式図を示し、これは、テスト化合物をスクリーニングするための「LabChipTM」として標榜した複数の微小実験用の装置を使用する。

図 8 は、連続流アッセイスクリーニングシステムに使用するチップのレイアウトの模式図である。

図 9 は、連続流スクリーンアッセイから得た蛍光データを示す。図 9 A は、チップ形式にて、 β -ガラクトシダーゼアッセイシステムに公知の阻害剤 (IPTG) を定期的に導入したテストスクリーンから得た蛍光データを示す。図 9 B は、図 9 A から得た 2 個のデータ部分の重なりを示し、直接的に、この阻害剤データとコントロール (緩衝剤) データとを比較している。

図 10 は、酵素阻害剤スクリーニングを行う小チップ装置上での流体流れシス

テムの操作パラメータを示す。

図 1 1 は、微小流体装置チャネルに充填する試料/スパーサーのタイミングの

模式図を示す。

図 1 2 のパネル A ~ G は、本発明の装置で使用する電極を図示する。

発明の詳細な説明

1. 本発明の適用

本発明は、高処理能力スクリーニングアッセイを行うのに有用な新規な微小実験室用のシステムおよび方法を提供する。特に、本発明は、微小流体装置、および種々の化学物質（好ましくは、生化学システム）に対するその効果について、非常に多くの異なる化合物をスクリーニングする際に、このような装置を使用する方法を提供する。

本明細書中で使用する「生化学システム」との語句は、一般に、生体有機体内に一般に見られるタイプの分子を包含する化学相互作用を意味する。このような相互作用には、生体システム内で起こる全範囲の異化および同化が含まれ、これらには、酵素反応、結合反応、シグナル反応および他の反応が含まれる。さらに、本明細書中で定義する生化学システムはまた、特定の生化学相互作用に似せたモデルシステムを含む。本発明を実施する際に特に重要な生化学システムの例には、例えば、受容体-配位子相互作用、酵素-基質相互作用、細胞シグナル経路、生体利用能スクリーニングのためのモデルバリアシステム（例えば、細胞または膜断片）が関与した輸送反応、および種々の他の一般的なシステムが含まれる。細胞または有機体の生存度または活性もまた、例えば、毒性学研究において、本発明の方法および装置を用いてスクリーニングできる。アッセイされる生体材料には、細胞、細胞断片（例えば、膜、細胞質溶出液など）、細胞膜受容体のアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば、細胞-受容体相互作用（例えば、トランスフェリン、c-キット、ウイルス受容体配位子（例えば、CD4-HIV）、サイトカイン受容体、ケモキシン受容体、インターロイキン受容体、イムノグロブリン受容体および抗体、カドヘリン族、インテグリン族、セレクチン族など）；例えば、Pigott and Power (1993) The Adhesion Molecule Facts Book Academic

Press New York and Hulme (ed) Receptor Ligand Interactions A Practical Approach Richwood and Hamas (series editors) IRL Press at Oxford Press NY

を参照せよ) ; 毒物および毒液、ウイルスエビトープ、ホルモン (例えば、オピエート、ステロイドなど)、細胞内受容体 (例えば、ステロイド、サイロイド、ホルモン、レチノイドおよびビタミンDを含めた種々の小配位子の効果を媒介するもの ; 再検討のために、例えば、Evans (1988) Science, 240 : 889~895 ; Ham and Parker (1989) Curr. Opin. Cell Biol., 1 : 503~511 ; Burnsteinら (1989) , Ann. Rev. Physiol., 51 : 683~699 ; Truss and Beato (1993) Endocr. Rev. , 14 : 459~479を参照せよ)、ペプチド、レトロインベルソペプチド、 α -、 β -また ω -アミノ酸 (D-またはL-) の重合体、酵素、酵素基質、共因子、薬剤、レクチン、ショ糖、核酸 (線状および環状の重合体立体配座の両方)、オリゴ糖、タンパク質、リン脂質および抗体が挙げられるが、これらに限定されない。上記のいずれかに公知の薬剤が共有結合した合成重合体 (例えば、ヘテロ重合体)、例えば、ポリウレタン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリ尿素、ポリアミド、ポリエチレンイミン、ポリアリーレンスルフィド、ポリシロキサン、ポリイミドおよびポリアセテートなどもまた、アッセイされる。他の重合体もまた、本明細書中で記述のシステムを用いてアッセイされる。当業者は、一般に、その生物文献をよく知っている。生体システムについての一般的な入門書については、以下を参照せよ :

Berger and Kimmel, *Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology* volume 152 Academic Press, Inc., San Diego, CA (Berger); Sambrook *et al.* (1989) *Molecular Cloning - A Laboratory Manual* (2nd ed.) Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press, NY, (Sambrook); *Current Protocols in Molecular Biology*, F.M. Ausubel *et al.*, eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., (through 1997 Supplement) (Ausubel); Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene, Fourth Edition* The Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, CA; Watson *et al.* (1992) *Recombinant DNA Second Edition* Scientific American Books, NY; Alberts *et al.* (1989) *Molecular Biology of the Cell Second Edition* Garland Publishing, NY; Pattison (1994) *Principles and Practice of Clinical Virology*; Darnell *et al.*, (1990) *Molecular Cell Biology second edition*, Scientific American

Books, W.H. Freeman and Company; Berkow (ed.) *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, Merck & Co., Rahway, NJ; *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Thirteenth Edition, Isselbacher *et al.* (eds), (1994) *Lewin Genes*, 5th Ed., Oxford University Press (1994); The "Practical Approach" Series of Books (Rickwood and Hames (series eds.) by IRL Press at Oxford University Press, NY;

The "FactsBook Series" of books from Academic Press, NY,
 生体試薬および実験装置の製造業者からの製品情報もまた、生体システムをアッ
 セイするのに有用な情報を提供する。このような製造業者には、例えば、

the SIGMA chemical company (Saint Louis, MO), R&D systems
 (Minneapolis, MN), Pharmacia LKB Biotechnology (Piscataway, NJ), CLONTECH
 Laboratories, Inc. (Palo Alto, CA), Chem Genes Corp., Aldrich Chemical
 Company (Milwaukee, WI), Glen Research, Inc., GIBCO BRL Life Technologies,
 Inc. (Gaithersburg, MD), Fluka Chemica-Biochemika Analytika (Fluka Chemie AG,
 Buchs, Switzerland), Invitrogen, San Diego, CA, and Applied Biosystems (Foster
 City, CA)

ならびに、当業者に公知の他の多くの企業が挙げられる。

生化学システムに対する効果について化合物をスクリーニングする方法および
 装置を提供するために、本発明は、一般に、その作動体化合物が望ましい所定の
 インビボでの生化学システムに似せたモデルインビトロシステムを組み込んでい
 る。化合物がスクリーニングできその作動体化合物が望ましいシステムの範囲は

、広い。例えば、化合物は、必要に応じて、生化学システムに付随してその効果が望ましくない重要な事象を妨害し、遅くまたは阻害する効果について、スクリーニングされる。例えば、テスト化合物は、必要に応じて、少なくとも一部、病気の発病または病気（例えば、遺伝病、癌、バクテリアまたはウイルス感染など）の特定の徴候の原因となるシステムを妨害する能力について、スクリーニン

グされる。これらのスクリーニングアッセイ法において、有望な結果を示す化合物は、次いで、次のテストにかけられて、病気または病気の徴候の治療について効果的な生理学試験を同定できる。

他方、化合物は、例えば、患者に存在する欠乏を治療するために、望ましい作用を有する生化学システムを刺激し、向上させまたは誘発する能力について、スクリーニングできる。

一旦、モデルシステムが選択されると、テスト化合物のパッケージは、次いで、これらのモデルシステムに適用される。インビトロで、特定の生化学システムに対して効果を有するテスト化合物を同定するために、インビボで、そのシステムの潜在的な作動体を同定できる。

その最も簡単な形式では、本発明の方法および装置で使用する生化学システムモデルは、生化学システムの2成分間の相互作用（例えば、受容体-配位子相互作用、酵素-基質相互作用など）に対するテスト化合物の効果をスクリーニングする。この形式では、この生化学システムモデルは、典型的には、作動体が探索しているこの生化学システムの2個の通常相互作用している成分（例えば、受容体およびその配位子または酵素およびその基質）が含まれる。

次いで、テスト化合物がこの相互作用に対して効果を有するかどうかを決定することには、このシステムをこのテスト化合物と接触させ、そしてこのシステムの作用（例えば、受容体-配位子結合または基質転換）についてアッセイすることが含まれる。アッセイした機能は、次いで、対照、例えば、このテスト化合物の非存在下または公知作動体の存在下での同じ反応と比較される。典型的には、このようなアッセイには、この生化学システムのパラメーターの測定が関与している。「生化学システムのパラメーター」とは、そのシステムの機能の一定の測

定可能な証拠、例えば、分子内の標識基または電荷の存在または非存在（例えば、結合反応、輸送スクリーニングでの）、反応生成物または基質の存在または非存在（例えば、転換測定での）、または電気泳動移動性における交代（典型的には、標識化合物の溶出時間での電荷により検出される）を意味する。

2 成分生化学システムについて記述したものの、これらの方法および装置はまた、ずっと複雑なシステム（ここで、このシステムの結果または最終生成物は、

公知であり、一定レベルでアッセイ可能である；例えば、酵素経路、細胞シグナル経路など）の作動体に対してスクリーニングするのにも、使用できる。他方、本明細書中で記述の方法および装置は、必要に応じて、生化学システムの単一成分と相互作用する化合物（例えば、特定の生化学化合物（例えば、受容体、配位子、酵素、核酸、構造高分子など）に特異的に結合する化合物）についてスクリーニングするのに使用される。

生化学システムモデルはまた、全細胞システムにて、具体化できる。例えば、細胞応答に対する効果について、テスト化合物をスクリーニングすることを求めるなら、必要に応じて、全細胞が使用される。本明細書中に含めたスクリーニングシステムでは、変性細胞システムもまた、使用できる。例えば、キメラレポーターシステムは、必要に応じて、特定の生化学システムに対するテスト化合物の効果の指示体として、使用される。キメラレポーターシステムは、典型的には、その配位子に対する受容体の結合をシグナルするシグナル経路に一体化した不均一レポーターシステムを組み込んでいる。例えば、受容体は、非相関タンパク質（例えば、その活性が容易にアッセイできる酵素）と結合される。配位子結合によるこの受容体の活性は、次いで、この非相関タンパク質を活性化し、それは、次いで、検出できる。それゆえ、この代理レポーターシステムは、容易に検出できる事象またはシグナルを産し、それにより、レポーター/配位子結合のアッセイを提供する。このようなキメラレポーターシステムの例は、以前に、当該技術分野で記述されている。

加えて、生体利用能（例えば、輸送）についてスクリーニングする場合には、必要に応じて、生体バリアーが含まれる。「生体バリアー」との用語は、一般

に、生体システム内の細胞層または膜層、またはそれらの合成モデルを意味する。このような生体バリエーションの例には、上皮層および内皮層（例えば、血管内皮など）が含まれる。

生体応答は、しばしば、その配位子に対する受容体の結合により、標的されおよび/または制御される。例えば、成長因子（例えば、EGF、FGF、PDGFなど）とそれらの受容体との相互作用は、広範な生体応答（すなわち、細胞増殖および分化、媒介酵素の活性化、メッセンジャー転換の刺激、イオンフラックスの交代、

酵素の活性化、細胞形状の変更および一般の発現レベルの転換）を刺激する。従って、この受容体およびその配位子の間の相互作用の制御は、しばしば、その相互作用により起こる生体応答の制御を与え得る。

従って、一局面では、本発明は、レセプタ分子とそのリガンドとの間の相互作用に影響を与える化合物をスクリーニングする際に有用である。本明細書中で使用する「レセプタ」との用語は、一般に、互いに特異的に認識し結合する一対の化合物のうちの1メンバーを意味する。この対の他のメンバーは、「リガンド」と呼ばれる。それゆえ、レセプタ/リガンド対には、典型的なタンパク質レセプタ（通常、会合した膜）、およびその天然リガンド（例えば、他のタンパク質または小さな分子）を挙げることができる。レセプタ/リガンド対にはまた、抗体/抗原結合対、相補的核酸、核酸会合タンパク質およびそれらの核酸リガンドを挙げることができる。多数の特異的に会合している生化学化合物は、当該技術分野で周知であり、そして本発明を実施する際に、有用であり得る。

伝統的には、レセプタ/リガンド相互作用の作動体をスクリーニングする方法には、テスト化合物の存在下にて、レセプタ/リガンド結合対をインキュベートすることが関与していた。このレセプタ/リガンド対の結合レベルは、次いで、負対照および/または正対照と比較される。通常の結合の減少が見られる場合には、このテスト化合物は、このレセプタ/リガンド結合の阻害剤であると決定される。その結合の増加が見られる場合には、このテスト化合物は、この相互作用の向上剤または誘発剤であると決定される。

効率の関係では、スクリーニングアッセイは、典型的には、マルチウェル反応

プレート（例えば、マルチウェル微小プレート）で設定され、これにより、多数のテスト化合物を同時に並行してスクリーニングすることが可能となる。

類似の、おそらく重複した生化学システム設定には、酵素とその基質との間の相互作用が含まれる。本明細書中で使用する「酵素」との用語は、一般に、他の化合物または「基質」の化学変化を誘発する触媒として作用するタンパク質を意味する。

典型的には、その基質に対する酵素活性の作動体は、この酵素の活性の変化を検出するのに最適な条件下にて、スクリーニングする化合物の存在下または非存

在下にて、この酵素を基質と接触させることにより、スクリーニングされる。反応の設定時間後、この混合物は、反応生成物の存在または基質量の減少についてアッセイされる。触媒した基質の量は、次いで、対照、すなわち、テスト化合物の非存在下または公知作動体の存在下で基質と接触させた酵素と比較される。上記のように、その基質に対する酵素活性を低下させる化合物は、「阻害剤」と呼ばれるのに対して、その活性を強める化合物は、「誘発剤」と呼ばれる。

一般に、本発明に包含される種々のスクリーニング法は、複数のテスト化合物を微小流体装置に連続導入することを包含する。一旦この装置に注入すると、このテスト化合物は、連続的に一続きの（serial）または平行なアッセイ配向を用いて、生体システムに対する効果についてスクリーニングされる。

本明細書中で使用する「テスト化合物」との用語は、特定の生化学システムに影響を与える能力についてスクリーニングされる化合物の集合体を意味する。テスト化合物には、広範な異なる化合物を挙げることができ、これには、化学化合物、化学化合物の混合物、例えば、多糖類、小さな有機分子または無機分子、生体高分子（例えば、ペプチド、タンパク質、核酸）、または生体材料（例えば、細菌、植物、菌糸、または動物細胞または組織、天然に生じる組成物または合成組成物）からの抽出物が含まれる。実施する特定の実施態様に依存して、このテスト化合物が提供され、例えば、注入され、溶液中に解放され、または必要に応じて、担体または固体支持体（例えば、ビーズ）に結合される。このテスト化合物の固定化には、多くの適当な固体支持体を使用される。適当な固体支持体の例

には、アガロース、セルロース、デキストリン（すなわち、Sephadex、Sepharos[®]として市販されている）、カルボキシメチルセルロース、ポリスチレン、ポリエチレングリコール（PEG）、濾紙、ニトロセルロース、イオン交換樹脂、プラスチックフィルム、ガラスビーズ、ポリアミンメチルビニルエーテル-マレイン酸共重合体、アミノ酸共重合体、エチレン-マレイン酸共重合体、ナイロン、絹などが包含される。加えて、本明細書中で記述の方法および装置について、テスト化合物は、個々にまたはグループでスクリーニングされる。グループスクリーニングは、効果的なテスト化合物の的中割合が低いと予想され、所定のグループに対して、1個より多い正の結果が期待できない場合に、特に有用である。他方、

このようなグループスクリーニングは、異なるテスト化合物の効果が、例えば、これらの効果の電気泳動分離、または別個の検出を可能にする差動標識によって、単一システムでは異なって検出される場合に、使用される。

テスト化合物は市販されており、または当業者に明らかなまたは上記のような種々の生体源のいずれから誘導される。一面では、患者からの組織ホモジネートまたは血液試料が、本発明のアッセイシステムでテストされる。例えば、一面では、血液は、生体関連分子の存在または活性について、テストされる。例えば、酵素の存在および活性レベルは、酵素基質を生体試料に供給し、そして本発明のアッセイシステムを用いて、生成物の形成を検出することにより、検出される。同様に、感染性の病原体（ウイルス、細菌、菌糸など）または毒性の腫瘍の存在は、この病原体または腫瘍細胞、またはこの病原体または腫瘍の1成分（例えば、タンパク質、細胞膜など）への標識リガンドの結合をモニターすることにより、または代わりに、患者の血液内の抗原または腫瘍に対する抗体の存在をモニターすることにより、テストできる。例えば、患者の血液に由来の抗体のウイルス性タンパク質（例えば、HIVタンパク質）への結合は、このウイルスに対する患者の暴露をモニターする一般的なテストである。病原体感染を検出する多くのアッセイは、周知であり、そして本発明のアッセイシステムに適合される。生体試料は、周知の方法（例えば、静脈注射または組織生検）を用いて、患者

から誘導される。この生体材料が、ヒト以外の動物（例えば、商業用の家畜）から誘導される場合、血液試料および組織試料は、好都合には、家畜処理プラントから得られる。同様に、本発明のアッセイで使用する植物材料は、好都合には、農業源または園芸源から誘導される。他方、生体試料は、組織および/または血液が保存されている細胞または血液バンク、またはインビトロ源（例えば、細胞の培養物）に由来し得る。生体材料の原料として使用する細胞の培養物を作成する技術および方法は、当業者に周知である。Freshney *Culture of Animal Cells, a Manual of Basic Technique, Third Edition* Wiley-Liss, New York (1994) は、細胞培養物の一般的な導入を提供している。

II. アッセイシステム

上記のように、本発明のスクリーニング法は、一般に、このアッセイを行うの

に必要な要素の一体化、自動化、およびこのアッセイシステムに対する最小の環境効果（例えば、蒸発、汚染、作業者のミスなど）を考慮した微小流体装置または「微小実験室システム」で行われる。本発明のアッセイ法を行うための多くの装置は、以下で相当詳しく記述している。しかしながら、これらの装置の特定の形態は、一般に、望ましいアッセイのタイプおよび/またはアッセイ配向に依存して、変わる。例えば、ある実施態様では、本発明のスクリーニング法は、2個の交差チャネルを有する微小流体装置を用いて、行うことができる。さらに複雑なアッセイまたはアッセイ配向については、必要に応じて、微小チャネル/交差装置が使用される。これらの装置の小規模で一体化的および自己包含的な性質により、事実上、この微小実験室アッセイの状況内では、いずれのアッセイ配向も実現可能となる。

A. 動電物質輸送

好ましい局面では、本明細書中で記述の装置、方法およびシステムは、動電物質輸送システム、好ましくは、制動動電物質輸送システムを使用する。本明細書中で使用する「動電物質輸送システム」とは、物質に電場を適用することにより、相互連絡したチャネルおよび/または小室を含有する構造内で、物質を輸送し誘導して、それにより、このチャネルおよび/または小室を介して且つその間で

、物質移動を起こすシステムを包含し、例えば、カチオンは、負電極に向かって移動するのに対して、アニオンは、正電極に向かって移動する。

このような動電物質輸送および誘導システムには、その構造に適用した電場内での、荷電種の電気泳動移動性に依存したシステムが含まれる。このようなシステムは、さらに特定すると、電気泳動物質輸送システムと呼ばれる。他の動電材料誘導および輸送システムは、このような構造を模倣する電場の適用により得られるチャンネルまたは小室構造内の、流体および物質の電気浸透流に依存する。要約すると、流体が、エッチングしたガラスチャンネルまたはガラス毛细管にて、荷電官能基（例えば、水酸基）を持った表面を有するチャンネルに配置されるとき、このような基は、イオン化できる。ヒドロキシル官能基の場合には、例えば、中性pHでのこのイオン化の結果、この表面からこの流体へとプロトンが放出され、この流体/表面の界面近傍にて、プロトン濃度が形成されるか、またはこのチャネ

ル内で、このバルク流体を取り囲む正に荷電した鞘が形成される。このチャンネルの長さを横切った電圧勾配を適用することにより、このプロトン鞘だけでなく、それが取り囲んでいる流体が、この電圧降下の方、すなわち、その負電極に向かって、移動する。

本明細書中で使用する「制御動電物質移動および誘導」とは、上記の動電システムであって、複数の（すなわち、2個以上の）電極に適用した電圧のアクティブ制御を使用するものを意味する。言い換えれば、このような制御動電システムは、少なくとも2個の交差したチャンネルを横切って適用した電圧勾配を、同時に制御する。制御動電物質輸送は、Ramseyの公開PCT出願第WO 96/04547号に記述され、その内容は、全ての目的に対して、その全体が本明細書中で参考として援用されている。特に、本明細書中で記述の好ましい微小流体装置およびシステムには、少なくとも2個の交差チャンネルまたは流体導管（例えば、交差結合し包囲した小室であって、その小室は少なくとも3個の非交差末端を含む）を有する本体を含む。2個のチャンネルの交差部分は、2個またはそれ以上のチャンネルが流体連絡している点を表わし、複数チャンネルの「T」交差点、横断交差点、「ワゴン車輪」交差点、または2個以上のチャンネルがこのように流体連絡したいずれかの他

のチャネル幾何学配置を包含する。チャネルの非交差末端は、チャネルが、そのチャネルが他のチャネルとの交差（例えば、「T」交差）の結果としてではなく、終結している点である。好ましい局面では、これらの装置には、少なくとも4個の非交差末端を有する少なくとも3個の交差チャネルを包含する。基本的な交差チャネル構造では、単一の水平チャネルが、単一の垂直チャネルと交差して横切っている場合には、制御動電物質輸送は、この交差点において、他のチャネルからの束縛流を提供することにより、この交差点を介して、物質流を制御可能に導くように、作動する。例えば、水平チャネルを介して、例えば左から右へと、垂直チャネルとの交差点を横切って、第一物質を輸送することを望んでいると仮定する。この交差点を横切る簡単な動電物質流は、この水平チャネルの長さを横切って電圧勾配を適用することにより、すなわち、このチャネルの左末端に第一電圧を適用し、そしてこのチャネルの右末端にそれより低い第二電圧を適用することにより、または右末端をフロート（電圧を適用しない）させることにより、達

成できる。しかしながら、この交差点を通るこのタイプの物質流の結果、この交差点では、使用する媒体内で輸送される物質の天然拡散特性からだけでなく、この交差点での対流効果から、相当量の拡散が生じる。

制御動電物質輸送では、この交差点を横切って輸送される物質は、側面チャネル（例えば、頂部チャネルおよび底部チャネル）からの低レベルの流れにより、束縛される。これは、例えば、この垂直チャネルの頂部末端または底部末端から、右末端に向かって、物質流の経路に沿って、僅かな電圧勾配を適用することにより達成される。この結果は、この交差点における物質流の「ピンチング」であり、これはこの物質の垂直チャネルへの拡散を防止する。この交差点における物質のピンチ容量は、次いで、この垂直チャネルの長さを横切る、すなわちこの頂部末端から底部末端へと電圧勾配を適用することにより、この垂直チャネルに注入できる。この注入中における水平チャネルからの物質の染みだしを防止するために、この側面チャネルには、低レベルの流れが戻され、その結果、この交差点からの物質の「ブルバック」が生じる。

ピンチ注入スキームに加えて、制御動電物質輸送は、機械部品または可動部品を含まない仮想バルブを作成するのに、容易に利用される。具体的には、上記の横断交差点を参照して、1チャンネル部分から他部分への（例えば、この水平チャンネルの左アームから右アームへの）物質流は、この垂直チャンネルからの（例えば、この垂直チャンネルの底部アームから頂部アームへの）制御流により、効果的に制御され、停止され、そして再開できる。具体的には、「オフ」モードでは、この物質は、この左末端および頂部末端に電圧勾配を適用することにより、この左アームから、この交差点を介して、この頂部アームへと輸送される。束縛流は、この経路に沿って（この底部末端からこの頂部末端へと）、類似の電圧勾配を適用することにより、この底部アームからこの頂部アームへと向かう。適用した電圧勾配を、左→頂部から左→右へと切り換えることにより、計量した量の物質が、この水平チャンネルの左アームから右アームへと分配される。適用した時間量および電圧勾配は、この様式で分配した物質の量を規定する。4経路の横断交差点に関して、例示の目的で記述したものの、これらの制御動電物質輸送システムは、さらに複雑な交差チャネルネットワーク（例えば、交差した平行チャネルの配

列）に容易に適合できる。

B. 連続流アッセイシステム

好ましい実施態様では、本発明の方法および装置は、連続流アッセイシステムを用いて、テスト化合物をスクリーニングする際に使用される。一般に、この連続流アッセイシステムは、酵素活性の阻害剤または誘発剤、またはレセプターリガンド結合のアゴニストまたはアンタゴニストをスクリーニングする際に、容易に使用できる。要約すると、この連続流アッセイシステムには、微小作製したチャンネルに沿った特定の生化学システムの連続流が関与している。本明細書中で使用する「連続」との用語は、擬して連続的に流れている特定の組成物の途切れていない連続した流れを意味する。例えば、連続流には、設定速度を有する一定流体流れ、あるいはシステム全体の流速には休止を含むが、この休止がこの流体流れを遮断しないものを挙げることができる。この流体の機能は、検出可能な事

象またはシグナルの発生により、指示される。特に好ましい実施態様では、このような検出可能なシグナルには、使用する特定のモデルシステムの機能に付随した光学的に検出可能な発色または蛍光シグナルが挙げられる。酵素システムについては、このようなシグナルは、一般に、例えば、発色基質または蛍光基質に対する、この酵素の触媒作用の産物により生じる。結合システム（例えば、レセプターリガンド相互作用）については、シグナルには、典型的には、標識リガンドのこのレセプタとの会合またはその逆が関与している。

本発明のアクセシビリティおよび装置では、広範な他の検出可能なシグナルおよび標識もまた、使用できる。上記発色および蛍光標識に加えて、放射性崩壊、電子密度、pH変化、溶媒粘度、温度および塩濃度もまた、測定するのが便利である。

さらに一般的には、標識は、一般的に分光測定手段、光化学手段、生化学手段、免疫化学手段または化学手段により検出可能である。例えば、有用な拡散標識には、³²P、³⁵S、蛍光染料、高電子密度試薬、酵素（例えば、ELISAで一般的に使用されるもの）、ビオチン、ジオキシゲニン、またはヘパテンおよびタンパク質（抗血清またはモノクローナル抗体が利用できるもの）が挙げられる。生体成分を標識するのに適当な広範な標識は公知であり、化学文献および特許文献の両方で広く報告されており、一般に、生体成分の標識化のために、本発明に適用でき

る。適当な標識には、ラジオヌクレオチド、酵素、基質、共因子、阻害剤、蛍光部分、化学発光部分、磁性粒子などが挙げられる。標識試薬は、必要に応じて、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、タンパク質、または他の重合体（例えば、親和性マトリックス、炭水化物または脂質）を含有する。検出は、種々の公知方法（放射性マーカーまたは蛍光マーカーの分光測定または光学追跡、またはサイズ、電荷または親和性に基づいて分子を追跡する他の方法を含めて）のいずれかにより、進行する。検出可能な部分は、検出可能な物理的特性または化学的特性を有するいずれかの物質の部分であり得る。このような検出可能な標識は、ゲル電気泳動、カラムクロマトグラフィー、固体基質、分光法などの分野で、よく開発されており、このような方法で有用な標識は、本発明に適用で

きる。それゆえ、標識は、分光手段、光化学手段、生化学手段、免疫化学手段、電気手段、光熱手段または化学手段により検出できる任意の組成物である。本発明で有用な標識には、蛍光染料（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミンなど）、放射性標識（例えば、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、³²Pまたは³³P）、酵素（例えば、*LacZ*、CAT）ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、およびマーカー産物としてまたはELISAでのものとしてのいずれかとして検出可能酵素として一般的に使用される他のもの）、核酸挿入物（例えば、エチジウムブロマイド）および発色標識（例えば、コロイド状金または着色ガラスまたはプラスチック（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックスなど）ベース）が挙げられる。

蛍光標識は、特に好ましい標識である。好ましい標識は、典型的には、以下の1種またはそれ以上により特徴付けられる：高感受性、高安定性、低バックグラウンド、低環境感受性および高標識特異性。

蛍光部分は、本発明の標識に組み込まれるが、一般に公知であり、これには、1-および2-アミノナフタレン、*p*,*p'*-ジアミノスチルベン、ビレン、四級フェナンスリジン塩、9-アミノアクリジン、*p*,*p'*-ジアミノベンゾフェノンイミン、アントラセン、オキサカルボシアニン、メロシアニン、3-アミノエカイレニン、ペリレン、ビス-ベンゾキサゾール、ビス-*p*-オキサゾールベンゼン、1,2-ベンゾフェナジン、レチノール、ビス-3-アミノリジニウム塩、ヘレブリゲニン、テト

ラサイクリン、ステロフェノール、ベンズイミダゾールフェニルアミン、2-オキソ-3-クロメン、インドール、キサンテン、7-ヒドロキシマリジン、フェノキサジン、カリキレート、ストロファンチジン、ボルフィリン、トリアリールメタンおよびフラビンが含まれる。本発明の装置またはアッセイで望ましく検出される要素に結合する官能性を有するかまたはこのような官能性を含入するように変性できる個々の蛍光性化合物には、例えば、ダンシルクロライド；フルオレセイン（例えば、3,6-ジヒドロキシ-9-フェニルキサンチン-10-ドール）；ローダミンイソチオシアネート；N-フェニル 1-アミノ-8-スルホナトナフタレン；N-フェニル 2-アミノ-6-スルホナトナフタレン；4-アセトアミド-4-イソチオシアナト-ス

チルベン-2,2'-ジスルホン酸；ビレン-3-スルホン酸；2-トルイジノナフタレン-6-スルホネート；N-フェニル-N-メチル-2-アミノナフタレン-6-スルホネート；エチジウムプロマイド；ステブライン；オ-ロミン-0,2- (9'-アンスロイル) パルミテート；ダンシルホスファチジルエタノールアミン；N,N'-ジオクタデシルオキサカルボシアン；N,N'-ジヘキシルオキサカルボシアン；メロシアン；4- (3'-ビレニル) ステアレート；d-3-アミノデソキシ-エクイレニン；12- (9'-アンスロイル) ステアレート；2-メチルアントラセン；9-ビニルアントラセン；2,2'- (ビレニル p-フェニレン) ビスベンゾキサゾール；p-ビス (2- (4-メチル-5-フェニル-オキサゾリル)) ベンゼン；6-ジメチルアミノ-1,2-ベンゾフェナジン；レチノール；ビス (3'-アミノビリジニウム) 1,10-デカンジールジヨウグaid；ヘリブリエニンのスルホナフチルヒドラゾン；クロロテトラサイクリン；N- (7-ジメチルアミノ-4-メチル-2-オキソ-3-クロメニル) マレイミド；N- (p- (2-ベンズイミダゾリル) -フェニル) マレイミド；N- (4-フルオランチル) マレイミド；ビス (ホモバニリン酸)；リザザリン；4-クロロ-7-ニトロ-2,1,3-ペンゾオキサジアゾール；メロシアン540；レソルフィン；ローズベンガル；および2,4-ジフェニル-3(2H)-ピラノンが挙げられる。多くの蛍光タグは、

SIGMA chemical company (Saint Louis, MO),

Molecular Probes, R&D systems (Minneapolis, MN), Pharmacia LKB

Biotechnology (Piscataway, NJ), CLONTECH Laboratories, Inc. (Palo Alto, CA),

Chem Genes Corp., Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), Glen Research,

Inc., GIBCO BRL Life Technologies, Inc. (Gaithersburg, MD), Fluka Chemical-

Biochemika Analytika (Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland), and Applied

Biosystems (Foster City, CA)

だけでなく、当業者に公知の他の企業から市販されている。

望ましくは、蛍光標識は、約300nm以上、好ましくは、約350nm以上、さらに好ましくは、約400nm以上の光を吸収し、吸収した光の波長よりも約10nm高い波長で発光する。結合した標識の吸収および発光特性は、未吸収標識のそれとは異なっていてよいことを記しておく。従って、種々の波長範囲および特性の標識を

述べるとき、それは、使用した標識を示すことを意図しているのであって、非共役で任意の溶媒中で特徴付けられた標識を示す意図ではない。

蛍光標識は検出可能な標識の一つの好ましいクラスである。理由の一つは蛍光標識に光を照射することによって、複数の発光を得ることができるからである。従って、単一の標識は、複数の測定可能なイベント(event)に与え得る。検出可能なシグナルは、化学発光源および生物発光源によっても与えられる。化学発光源は化学反応によって電気的に励起され、その後、検出可能なシグナルとして供給されるか、または蛍光アクセプタにエネルギーを与える光を放出し得る化合物を含む。多数の化合物系は、様々な状況のもとで化学発光を与えることが見いだされている。ある化合物系は、2,3-ジハイドロ-1,4-フタラジンジオンである。最も一般的な化合物は、5-アミノ化合物であるルミノールである。他には、5-アミノ-6,7,8-トリメトキシ-9-メチルアミノ [Ca] ペンズ類似体がある。これらの化合物は、アルカリ性の過酸化水素または次亜塩素酸カルシウムおよび塩基とともに発光を示す。別の化合物系は、2,4,5-トリフルオロイミダゾール（元の生成物に対する一般的な名前としてロフィンと呼ばれる）である。化学発光類似体はパラ-ジメチルアミノおよびメトキシ基を含む。化学発光はまた、塩基下でたいていはシュウ酸塩の活性エステル（例えば、p-ニトロフェニルおよび過酸化化合物、例えば過酸化水素）であるシュウ酸塩とともに得られ得る。他の有用な化学発光化合物はまた、-N-アルキルアクリジニウムエステル（塩基性 H_2O_2 ）

お

よびジオキセタンを含むことが知られており、利用可能である。あるいは、ルシフェリンは、ルシフェラーゼまたはルシジェニンとの接合に使用され得、生物発光を与え得る。

標識は、直接的にまたは間接的に分子に結合され、当該分野で周知の方法で（生成物、基質、および酵素などを）検出される。上に示したように、広く多様な標識が、要求される感度、化合物の接合のし易さ、安定性の要求、利用できる計測器、および処理準備に基づいた標識を選択することで使用される。非放射性標識は、多くの場合間接的手段で付される。一般にリガンド分子（例えば、バイオ

ン) は、ポリマーと共有結合をする。その後、検出可能な酵素、蛍光化合物、または化学発光化合物のように、本質的に検出可能であるかまたはシグナルシステムと共有結合をしているかのいずれかであるアンチリガンド (例えば、ストレプトアビジン) 分子とリガンドは結合する。多数のリガンドおよびアンチリガンドが使用され得る。リガンドが天然のアンチリガンド (例えば、ビオチン、チロキシン、およびコルチゾール) を有する場合、標識付けられたアンチリガンドとの接合に使用され得る。あるいは、任意のハプテン化合物または抗原化合物は、抗体との組み合わせに使用され得る。標識もまた、シグナル生成化合物に直接接合され得る (例えば、酵素または発光基との接合によって)。標識として対象の酵素は、第一に加水分解酵素であり、特にホスファターゼ、エステラーゼおよびグリコシターゼ、またはオキシドレダクターゼ、特にペルオキシターゼである。蛍光化合物は、フルオレセインおよびその派生物、ローダミンおよびその派生物、ダンシル、ウンベリフェロンなどを含む。化学発光化合物は、ルシフェリン、および2,3-ジハイドロフタラジンジオンを含む (例えば、ルミノール)。標識を検出する手段は、当業者に周知である。従って、例えば、標識が放射性の標識である場合、検出手段は、オートラジオグラフィーとしてシンチレーション計数管を、または写真フィルムを含む。標識が蛍光標識の場合、適切な波長の光で蛍光色素を励起して、結果の蛍光を検出することによって標識は検出され得る。例えば、写真フィルムによる顕微鏡法 (視覚的な検査) によって、デジタルカメラ、電荷結合素子 (CCD)、または光電子増倍管および光電管などのような電気的検出器の使用によって、検出され得る。蛍光標識および検出技術、特に顕微鏡法お

および分光法は好ましい。同様に、酵素学的な標識は、酵素学的に適切な基質を与えることによって、および結果の反応生成物を検出することによって検出される。結局は、標識に関連した色を観察することによって単純な比色分析の標識がしばしば簡単に検出される。例えば、接合された金はしばしばピンク色に見えるか、様々な接合されたビードは、ビードの色に見える。

好ましい局面では、連続的なシステムは、テスト化合物がシステムに影響を与

えるように導入されたときのみに変化する一定のシグナルを生成する。具体的には、システムの構成要素はチャネルに沿って流れるので、検出区域またはチャネルの窓で比較的一定なシグナルレベルを生成する。テスト化合物は、チャネル内に定期的に導入され、システムの構成要素を混合される。それらのテスト化合物がシステムへの影響を有する場合、検出窓で一定のシグナルレベルから逸脱する。その後、この逸脱は、スクリーニングされた特定のテスト化合物に相関され得る。

連続してとぎれないアッセイ形状における使用のための一つの実施形態は、図1に示される。図示するように、全体の装置100は平面基板102に作製される。適した基板物質は一般的に、装置によって実施される特定の動作で呈する条件を保ちながら適合性に基づいて選択される。そのような条件は、極値のpH、温度、塩濃度、および電界の適用を含む。さらに、基板物質はまた、装置によって分析または合成の重大な構成要素に対する不活性さに関して選択される。

有用な基板物質の例は、重合体基板（例えば、プラスチック）と同様に、例えばガラス、石英、およびシリコンを含む。伝導体または半導体基板の場合、一般に、基板内に絶縁層を含むことが望ましい。これは、装置が電気的要素（例えば、電気的物質および流体方向システム（fluid direction system）、およびセンサなど）を組み込んでいる場合に特に重要である。重合体基板の場合では、基板物質は、意図する使用に依存して任意的に剛性、半剛性、または非剛性であり、不透明、半透明、または透明である。例えば、光学的または視覚的な検出要素を含む装置は一般に、少なくとも一部分は透明な物質で作製され、その検出を促進することを少なくとも可能にする。あるいは、例えばガラスまたは石英の透明窓は、これらの型の検出要素のための装置に任意的に組み込まれる。さらに、重合体物質は、直鎖状骨格、または分岐状骨格を有し得、任意的に架橋しているか、また

は架橋していない。特に好ましい重合体物質の例は、例えばポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル（PVC）ポリスチレン、ポリスルホン、およびポリカーボネートなどを含む。

図1に示す装置は、一連のチャネル110、112、および基板表面に作製された任意の試薬チャネル114を含む。これらのチャネルの少なくとも一つは、微小断面寸法（例えば、約0.1 μm ～約500 μm の範囲）を典型的に有する。好ましくは、チャネルの断面寸法は、約0.1 μm ～約200 μm の範囲であり、さらに好ましくは、約0.1 μm ～約100 μm の範囲である。特に好ましい局面では、それぞれのチャネルは、約0.1 μm ～約100 μm の範囲にある少なくとも一つの断面寸法を有する。一般的に直線のチャネルについて示しているが、基板、サーベントライン、ノコギリ歯、または他のチャネル形状のスペースを最大限に使用するために、より長いチャネルを、より短い距離に効果的に組み込むことが認められる。

これらの微小スケール要素の基板表面への製造は一般に、当該分野で周知の多数の任意の製造技術によって行われ得る。例えば、リソグラフィ技術は、フォトリソグラフィエッチング、プラズマエッチング、またはウェット化学エッチングのような半導体製造工業において周知の方法を使用する、ガラス、石英、またはシリコン基板の製造に任意的に用いられる。あるいは、レーザードリル、および微小ミリング (micromilling) などのようなマイクロ機械加工法は、任意的に使用される。同様に、重合体基板に対してもまた、周知の製造技術が使用される。これらの技術は、例えば、微小スケール基板の大きなシートを生成するための回転打ち抜き (rolling stamp)、または基板がマイクロ機械加工成形で重合されるポリマー微小キャストイング技術を使用して、多数の基板が任意的に生成される注入成形法または打ち抜き成形法を含む。

装置は典型的には、導管を形成するために様々なチャネルを閉じこめ、流体を封止するチャネルを形成された基板をオーバーレイする付加的な平面要素を含む。平面カバー要素の付加は、例えば、熱接合、接着剤、または特定の基板（例えばガラス、または半剛性および非剛性重合体基板）の場合、二つの構成要素の自然接着を含む、様々な手段によって成し遂げられる。平面カバー要素は、特定の

クリーニングが必要とされる様々な流体要素を導入するためのアクセスポートお

よび/または貯水池を付加的に与えられる。

図1に示される装置もまた、チャネル110および114の端に配置され流体で接続されるリザーバー104、106、および108を含む。図示するように、サンプルチャネル112は、複数の異なるテスト化合物を装置に導入するために使用される。そのように、このチャネルは一般に、サンプルチャネル112および次のチャネル110に個々に導入される多数の別個のテスト化合物のソース (source) に流体で接続される

サンプルへの多数の個々の、すなわちテスト化合物の別個の量の導入は、多数の方法により実行される。例えば、微小ピペットは、装置にテスト化合物を導入するために任意に使用される。好ましい局面では、電気ピペットが、サンプルチャネル112に流体で接続されるように任意的に使用される。そのような電気ピペットの例は、例えば1996年6月28日に出願された米国特許出願第08/671,986号 (弁理士整理番号第017646-000500号) に記載されており、その開示をすべての目的上、その全体を参照して、本明細書中で参考として援用している。一般に、この電気ピペットは、本明細書で説明する電気浸透性の流体方向を利用し、多数のテスト化合物または“対象物質 (subject materials)”、およびスベージ化合物を交互にサンプリングする。その後、ピペットは、個々に、すなわち物理的に分離された対象物質領域におけるサンプルまたはテスト化合物の量を、装置内で引き続く処置のためのサンプルチャネルに、一続きで配送する。個々のサンプルは、典型的に低イオン強度スベージ流体のスベージ領域で分離される。これらの低イオン強度スベージ領域は、その長さにわたって、高いイオン強度対象物質またはテスト化合物領域が有する電圧降下よりも高い電圧降下を有する。それによって、動電学的ポンピングを駆動する。テスト物質または対象物質領域 (典型的に高いイオン強度溶液である) のいずれか一方が、対象物質領域の境界面を接触させる第1スベージ領域として参照される (または、“ガードバンド”) として参照される) 流体領域である。これらの第1スベージ領域は、典型的に高いイオン強度溶液を含み、低イオン強度流体領域への、または第2のスベージ領域へのサンプル要素の移動を妨げる。その移動によって、電気泳動バイアスが生じる。その

ような第1および第2のスベーク領域の使用は、1996年6月28日に出願された米国特許出願第08/671,986号（弁理士整理番号第017646-000500号）にさらに詳細に記載されており、参照として本明細書に援用する。

あるいは、サンプルチャネル112は、別個のリザーバーを介して多数の別個のリザーバーに任意的に個々に流体接続される。別個のリザーバーは、別個のテスト化合物をそれぞれ含む。付加的なリザーバーは、適切なスベーク化合物に対して与えられる。その後、テスト化合物および/またはスベーク化合物は、様々なリザーバーから適切な物質方向配列を使用するサンプルチャネルへ輸送される。どちらの場合でも、適切なスベーク領域をもつ、ばらばらのサンプル量またはテスト化合物を分離することが、一般に望まれる。

示すように、装置は、生化学システムからのシグナルが任意的にモニタされる検出窓または区域116を含む。この検出窓は、視覚的および光学的なアッセイ結果の観察および（例えば、比色分析のまたは蛍光反応の観察）検出を可能にする透明カバーを典型的に含む。

特に好ましい局面では、検出窓でシグナルをモニタすることは、光学的検出システムを使用して達成される。例えば、シグナルに基づいた蛍光は、例えばレーザ活性蛍光検出システムを使用して典型的にモニタされる。そのようなシステムは、システム内の蛍光指標を活性化するための適切な波長のレーザ光源を用いる。その後、蛍光は、適切な検出要素（例えば、光電子増倍管（PMT））を使用して検出される。同様に、比色分析シグナルを用いるスクリーニングのために、サンプルに光源を直接当ててスペクトル測定検出システムが、任意的に使用される。そのシステムは、サンプルの吸光度または透過度の測定を与える。

代替の局面では、検出システムは、検出窓116内に配置されるシステムの特長を検出するための非光学検出器またはセンサを含み得る。そのようなセンサは、温度、伝導度、電位差測定（pH）イオン、電流測定（酸化または還元された化合物（例えば、 O_2 、 H_2O_2 、 I_2 、酸化可能/還元可能な有機化合物など））を含み得る。

動作では、生物学的システムの流動性の第1化合物（例えば、レセプタまたは酵素を含む流体）は、リザーバー104に配置される。この第1の化合物は、メイ

ンチャネル110を通して流され、検出窓116を過ぎて、廃棄物リザーバー108の方へ向かう。生物学的システムの第2の化合物（例えば、リガンドまたは基質）は、側面チャネル114からメインチャネル110へ同時に流される。それから、第1および第2の化合物は混合し、相互作用することができる。装置内のこれらの成分の堆積物は、多数の方法で運び出される。例えば、酵素および基質、またはレセプタおよびリガンドは、平面カバーにおける開口または密閉可能なアクセスポートを通して装置に導入され得る。あるいは、これらの化合物は、装置の製造中にそれぞれのリザーバーに任意的に付加される。そのような前付加化合物の場合では、安定化された形状におけるこれらの化合物を与えることが望ましく、装置の保管期限を延長することを可能にする。例えば、酵素/基質またはレセプタ/リガンド化合物は、凍結乾燥された形態における装置内に任意的に与えられる。使用に先立って、これらの化合物は、緩衝剤溶液をリザーバーに導入することによって容易に再構成される。あるいは、化合物は、適切な緩衝剤塩で凍結乾燥され、それによって、シンプル水（simple water）の付加は、すべて再構成に必要とされる。

上述したように、第1および第2の化合物の相互作用は、検出可能なシグナルによって典型的に達成される。例えば、第1の化合物が酵素、および第2が基質であるそれらの実態形態では、酵素が基質に作用するとき、基質は光学的に検出可能なシグナルを生成する発色体または蛍光体基質である。第1の化合物がレセプタで、第2に化合物がリガンドである場合では、リガンドまたはレセプタのいずれかが、検出可能なシグナルを任意的に含む。いずれかの場合では、検出窓116を通過した第1および第2の化合物の混合物の流れが定常状態シグナルを生成するように、化合物の混合物および流速は、一定値を典型的に保つ。“定常状態シグナル”に関しては、通常の、すなわち予測可能なシグナル強度プロファイルを有するシグナルを一般に意味する。そのように、定常状態シグナルは、一定のシグナル強度を有するシグナルを含み得るか、またあるいは、通常の周期的な強度を備えるシグナルを含み得る。周期的な強度を備えるシグナルでは、標準的なシグナルプロファイルにおける変動が測定される。この後者のシグナルは、連続的な流れシステムの説明において説明されるように流体の流れが周期的に妨げら

れる場合（例えば、付加的なテスト化合物のロード）において生成される。上述の酵素学的システムにおいて生成されるシグナルは、チャネルの長さに沿って変化するのだが（すなわち、酵素が蛍光体基質から蛍光体生成物に変換される露光時間と共に増大する）、チャネルの任意の特定の場所でのシグナルは、一定の流速を与えられて、一定値を保つ。

サンプルチャネル112から、テスト化合物は、周期的または連続的にメインチャネル110に、およびテスト化合物を含む流体領域として（対象物質領域としても参照される）第1および第2の構成要素の流れに導入される。これらのテスト化合物が、第1および第2の要素の相互作用に影響を及ぼす場合、対象物質領域に対応する検出窓で検出されるシグナルにおいて、ずれが発生する。上述のように、典型的に、チャネル112を通して注入される様々な異なるテスト化合物は、第1のスペース流体領域および第2のスペース流体領域によってさえ分離され、あるテスト化合物から別のテスト化合物へ影響の区別を、または影響の欠如を与える。電気浸透性の流体方向システムが用いられるこれらの実施形態では、スペース流体領域は、テストサンプル内で起こり得る任意の電気泳動バイアスを低減するようにも機能し得る。流体の電気浸透性の流れを駆動するためのこれらのスペース領域の使用は、サンプルまたはテスト化合物または対象物質領域内の電気泳動バイアスの一般的な排除と同様に、先に本明細書に参考として採用した1996年6月28日に出願された米国特許出願第08/671,986号（弁理士整理番号第017646 000500号）に実質的に記載されている。

実施例の方法によって、メインチャネル110を通る、安定な、連続の酵素および蛍光体基質の流れは、検出窓116で一定の蛍光シグナルを生成する。テスト化合物が酵素を妨げる場合、テスト化合物の導入（すなわち、対象物質領域における）は、その対象物質領域に対応する検出窓でのシグナルレベルにおいて、一時的であるが、検出可能な低下を発生させる。シグナルにおける低下の時間は、検出時間フレームへの公知の注入に基づいた特定のテスト化合物と相関され得る。具体的には、観察される効果を与えるために注入される化合物に対して要求される時間は、ポジティブ制御（positive control）を使用して容易に決定され得る。

され得る。具体的には、レセプタおよびその蛍光リガンドは、チャネルに沿った異なる流速を有するように生成され得る。これは、チャネル内に大きな排除マトリクスを組み入れることにより達成され得る。また、電気浸透法の場合では、レセプタがチャネルをさらに速く流れ下りるように、二つの化合物の関連する電気泳動移動度を変化させることにより達成され得る。さらに、これは大きな排除マトリクスを使用することにより、また電荷が変化する化合物の異なる流速を生じるチャネルにおける異なる表面電荷を使用することにより達成される。テスト化合物が、レセプタと結合する場合、より明るいパルスに引き続く蛍光シグナルにおいてダークパルスが生じる。特定の動作理論に結びつけられることなく、定常状態シグナルは、蛍光なしリガンド、およびレセプタと結合した蛍光リガンドの両方の結果であると考えられる。結合していないリガンドがよりゆっくりと動く一方で、結合したリガンドは、レセプタと同じ流速で動いている。テスト化合物が、レセプタ－リガンド相互作用を妨げる場合、レセプタが、蛍光リガンドを“伴う”ことはない。その結果、流れの方向において蛍光リガンドを希釈し、過剰な蛍光なしリガンドをあとに残す。これにより、一時的な蛍光の増加に続いて、定常状態シグナルの一時的な低減を生じる。あるいは、レセプタとそのリガンドの相互作用を反映するシグナルがある場合、酵素学的システムの使用と同様の概要が用いられる。例えば、レセプタ－リガンド結合のpHの影響を指し示すpH指標は、生化学システム（すなわち、包埋されたセルの形態において）と共に装置に組み込まれる。それによって、結合の結果生じるわずかなpHの変化が検出され得る。WeaverらによるBioTechnology（1988）6:1084-1089を見られたい。さらに、レセプタ－リガンド結合の結果生じる酵素の活性化（例えば、酸化酵素の活性化）をモニタリングことができ、またはそのような活性化状態の酵素の構造変化を検出する（例えば、活性化状態の酵素への構造変化によって活性化され、または失活される発光基を取り込むこと）ことができる。

微小スケール流体装置内の流れおよび流体の方向は、様々な方法によって実施される。例えば、装置は、集積化された微小流体構造（微小ポンプおよび微小弁

のような)、またはポンピングおよび装置を通る様々な流体の方向のための外部要素(例えば、ポンプおよびスイッチ弁)を含む。微小流体構造の例は、米国特

許番号第5,271,724号、第5,277,556号、第5,171,132号、および第5,375,979号に記載されている。また、公開英国特許出願番号第2 248 891号、および公開ヨーロッパ特許出願番号第568 902号も見られたい。

微小製造された流体ポンプおよびバルブシステムは、本発明の装置において容易に用いられるが、その製造および動作に関連したコストおよび複雑さにより、本発明で想像されているような大量生産使い捨て装置におけるそれらの使用は抑制され得る。そういった理由から、特に好ましい局面では、本発明の装置は、電気浸透性の流体方向システムを典型的に含む。そのような流体方向システムは、運動部分を欠く流体方向システムの正確さ(elegance)と、製造、流体制御、および廃棄の容易さとを組み合わせる。特に好ましい電気浸透性の流体方向システムの例は、Ramseyらの国際特許出願番号第0 96/04547号に記載されており、それはすべての目的上、その全体について、本明細書中で参考として援用する。

簡単に説明すると、これらの流体制御システムは、基板の表面に製造された複数の交差チャネルと流体的に関連してリザーバー内に配置される電極を典型的に含む。リザーバーに格納される物質は、所望のスクリーンアッセイを実施するために、適切な量の様々な物質を基板の一つ以上の領域に配送する、チャネルシステムを通して輸送される。

流体および物質の、輸送および方向は、電気浸透および動電学によって達成される。簡単に説明すると、適切な物質(典型的には、流体を含む)が面にある官能基を有するチャネル、または表他の流体経路に配置されるとき、それらの基はイオン化される。例えば、チャネルの表面が、表面に水酸基を含む場合、水素イオンはチャネルの表面を離れ流体に入る。そのような状況の下で、表面は、正味の負の電荷を持つ。ところが、流体は過剰な水素イオン、または特にチャネル表面と流体との界面付近に局在化した正の電荷を持つ。チャネルの長さに沿って電界を印加することにより、カチオンは負極の方へ流れる。流体において正に帯電された種の動きにより、それらの種と共に溶媒が引き寄せられる。この流体の動

きの定常状態での速度は、一般に以下の式で与えられる。

$$v = \frac{\epsilon \xi E}{4\pi \eta}$$

ここで、 v は溶媒の速度、 ϵ は流体の誘電率、 ξ は表面のゼータ電位、 E は電界強度、 η は溶媒の粘度である。従って、この式から容易に分かるように、溶媒の速度は表面電位に正比例している。

適切な電界を与えるために、システムは、接地を含むそれぞれのリザーバーに同時に電圧レベルを選択して適用できる電圧コントローラを一般に含む。そのような電圧コントローラは、選択可能な電圧レベルを得るために、多数の電圧分分割器および多数の中継器を使用して実施され得る。あるいは、多数の、独立した電源が任意的に使用される。電圧コントローラは、多数のリザーバーのそれぞれの中に配置され、または製造された電極を介してそれぞれのリザーバーに電気的に接続される。

この電気浸透性の流体方向システムを図1に示す装置に取り込むことは、サンプルチャネル112の終端での、または任意の流体チャネルの終端での、それぞれのリザーバー104、106、および108内の電極の取り込みを意味する。それによって、電極は、それぞれのリザーバーまたはチャネルに与えられた流体と電気的に接触した状態にある。基板物質もまた、所望の表面電荷を有するチャネルを生成するために選択される。ガラス基板の場合、エッチングされたチャネルは、表面に元々あるイオン化された水酸基から生じる正味の負の電荷を有する。あるいは、表面の改変が、適切な表面電荷を与えるために任意的に施される。そのような表面の改変は、例えば、コーティング、誘導体化（例えば、シラネーション（silanation））、または表面に適切な荷電基を与えるための表面注入などである。そのような処理の例は、1996年4月16日に出願された仮特許出願番号第60/015,498号（弁理士整理番号第017646-002600号）に記載されており、すべての目的上、その全体について、本明細書中で参考として援用する。

簡単に説明すると、適した基板物質は、特定の動作における条件とのその適合性に基づいて一般に選択され、装置によって実行される。そのような条件は、極値のpH、温度、塩濃度を含み得る。さらに、基板物質もまた、分析または合成

の重要な構成要素により選択され、装置によって実施される。重合体基板物質は、その意図される使用に依存して、剛性、半剛性、または非剛性であって、不透明、半透明、または透明であり得る。例えば、光学的または視覚的検出要素を含む装

置は、その検出を容易にするために、少なくとも一部分は透明の重合体物質から一般に製造される。あるいは、ガラスまたは石英の透明な窓が、これらの検出要素のための装置に取り込まれる。さらに、重合体物質は、直線または枝分かれした骨格を有し得、および架構または非架構され得る。重合体物質の例は、例えばアクリル、特に、PMMA（ポリメチルメタクリレート）を含む。典型的なアクリルは、Rockaway, NJ, のCYRO IndustriesのAcrylite M-30またはAcrylite L-40、または、Autohaas North AmericaのPLEXIGLAS VS UVTを含む。ポリカーボネートでは、The Plastics and Rubber division of Mobay Corporation (Pittsburg, PA) またはBayer CorporationのMakrolon CD-2005、または、GE PlasticsのLEXAN OQ 1020LまたはLEXAN OQ 1020である。ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル（PVC）ポリスチレン、ポリスルホン、ポリカーボネートなどもある。多くのプラスチックの光学的、機械的、熱的、電気的、および化学的な耐性は、周知（一般に生産業者から利用可能である）、または標準アッセイにより容易に決定され得る。

本明細書で説明されるように、本発明の装置において用いられる動電学的な流体制御システムは、その表面で荷電された官能基（ガラス基板上に存在する水酸基のような）を有する基板を一般に利用する。説明したように、本発明の装置もまた、プラスチックまたは他の重合体基板を用い得る。一般に、これらの基板物質は、疎水性の表面を有する。結果として、本発明において使用される重合体基板を使用する装置における動電的な流体制御システムの使用は、典型的に流体と接触している基板の表面の改変を要する。

重合体基板の表面変形は、種々の異なる形態を取り得る。例えば、表面は、適切な荷電物質でコートされ得る。例えば、荷電基および水酸基テールを持つ界面活性剤が、所望のコーティング物質である。要するに、疎水基のテールは、基質

の疎水基の表面に局在化し、その結果、流体層に電荷を有するヘッド基を与える。

一つの実施形態では、基板での荷電表面の調整は、改変させるための基板を重合体基板の表面を部分的に溶解し、または酸化させる適切な溶媒を含む（例えば、チャネルおよび/または反応チャンバ）。その後、界面活性剤が、部分的に溶解した表面に接触される。界面活性剤分子の疎水性部分は、部分的に溶解したガリ

マーと関連する。その後、溶媒が例えば水を使用して表面から洗い流されると、ポリマー表面は、表面に挿入された疎水基と共に堅くなり、流体界面に電荷を有するヘッド基を与える。

代替の局面では、ポリジメチルシロキサンのような重合体物質は、プラズマ照射によって改変され得る。特に、PDMSのプラズマ照射は、メチル基を酸化させる。その酸化によって、炭素を遊離させ、水酸基をその場に残し、重合体物質の上にガラス状の表面を、関連付けられたその水酸基と共に効果的に作成する。

重合体基板は、装置で用いられる特定の用途に依存して、剛性、半剛性、非剛性、または剛性と非剛性の組み合わせであり得る。一つの実施形態では、基板は、少なくとも一つのより柔らかく、柔軟性を有する基板要素、および少なくとも一つのより堅く、より剛性を有する基板要素、その表面で製造されたチャネルおよびチャンバを含むものの一つ、により構成されている。二つの基質を一致させると、柔らかい要素の包含は、チャネルおよびチャンバに対する流体の効果的な封止を構成することを可能にする。つまり、より剛性のプラスチック構成要素と共に接着して、溶かすことと関連付けられた必要性および問題を取り除く。

多数の付加的な要素は、動電学的な流体制御システムに与えるために重合体基質に付加される。これらの要素は、基板形成過程の間（すなわち成形または打ち抜きステップの間）、または別個のそれに続くステップの間のいずれかで付加され得る。これらの要素は、様々な流体のリザーバーに電圧を印加するための電極を典型的に含み、いくつかの実施形態では、印加された電圧をモニタするための様々なチャネルの交差での電圧センサを含む。

電極は、成形過程の一部として取り込まれ得る。特に、金型への重合体物質の導入で、電極が適切に配置されるように、電極は金型で作られ得る。あるいは、電極および他の要素は、基板が形成された後、周知の微小製造法を使用して付加され得る。例えば、そのような製造法は化学エッチングの後のスパッタリングまたは制御された蒸着法である。

電圧を変化させるのに、重合体または他の基質のどちらか使用されても、様々なリザーバーに同時に適用され、所望の流体の流れ特性に影響を及ぼす。例えば、流体の流れは、レセプタ/酵素の連続する流れ、テスト化合物の周期的な導入と

共に薬液リザーバーの方に向かうリガンド/基質の流れである。特に、様々なリザーバーに印加された電圧の変調は、制御された方法における装置の連結したチャネル構造を介して流体の流れを動かし、方向付けて、所望のスクリーンアッセイおよび装置に対して流体の流れをもたらす。

図2Aは、典型的なスクリーンアッセイの間の流体の方向の概略図を示す。具体的には、酵素-蛍光性の基質混合物の連続的な流れの中へのテスト化合物（対象物質領域における）の注入が示されている。図1を参照して図2Aに示したように、酵素の連続的な流れは、リザーバー104からメインチャネル110と通って流される。適切なスベア領域121（例えば、低イオン強度スベア領域）で分離されたテスト化合物120は、サンプルチャネル112からメインチャネル110へ導入される。いったんメインチャネルに導入されると、テスト化合物は、酵素の流れを流しながら、相互作用する。その後、混合された酵素/テスト化合物領域は、チャネル114との交差を過ぎてメインチャネル110に沿って流される。リザーバー106を含む、蛍光性のまたは発色性の基質の連続的な流れが、サンプルチャネル110に導入されると、酵素の連続的な流れと接触して、混ざる。その酵素の流れは、テスト化合物122を含む対象物質領域を含む。基質上の酵素の作用は、蛍光シグナルまたは色シグナルのレベルの増加を生成する。シグナルが検出窓に到達したとき、このシグナルの増加は、シグナルが検出窓に近づく時、メインチャネル内の遮光の増加によって指示される。このシグナルの傾向（trend）もまた、酵素/基質相互作用に影響を及ぼさないそれらのテ

スト化合物内、または対象物質領域内（例えば、テスト化合物 126）で発生する。テスト化合物が、酵素と基質との相互作用に対して効力を有さない場合、生成されたシグナルが、変動する。例えば、蛍光性基質を考えると、酵素とその基質との相互作用を妨げるテスト化合物は、対象物質領域内で生成される蛍光の乏しい生成物になる。これは、非蛍光、または検出窓 116 を通過するときに流れの中の検出可能で蛍光の乏しい領域を発生させる。検出窓は、対象物質領域に対応する。例えば、示すように、推定の酵素-基質相互作用の阻害剤であるテスト化合物 128 を含む対象物質領域は、周辺の流れよりも検出可能な乏しい蛍光を示す。これは、対象物質領域 128 の遮光の欠如を示している。

検出窓に隣接した検出器は、蛍光性または発色性の基質での酵素の活性度により生成された蛍光シグナルのレベルをモニタする。このシグナルは、酵素-基質相互作用に対して効力を有さないそれらのテスト化合物に対して比較的一定のレベルを保つ。しかしながら、阻害性化合物が、スクリーニングされると、基質に関して低下させられ、または阻害された酵素の活性度を表す蛍光シグナルに一時的な低下を発生させる。逆に、スクリーニングにおける誘発剤は、基質に関して増加された酵素の活性度に対応する蛍光シグナルの一時的な増加が発生する。

図 2B は、レセプターリガンド相互作用のエフエクトに対するスクリーニングの同様の概略図を与える。図 2A にあるように、レセプタの連続的な流れは、メインチャネル 110 を通ってリザーバー 104 から流される。適切なスベース流体領域 121 により分離されたテスト化合物領域または対象物質領域 150 は、サンプルチャネル 112 からメインチャネル 110 へ導入され、リザーバー 106 からの蛍光リガンドの連続的な流れは、側面チャネル 114 から導入される。蛍光は、チャネル内での遮光によって指示される。図 2A にあるように、検出窓 116 を通過した蛍光リガンドまたはレセプタの連続的な流れは、一定のシグナル強度を与える。レセプターリガンド相互作用に対する効力を有さないテスト化合物を含む流れの中の対象物質領域は、周辺の流れの残余（例えば、テスト化合物領域または対象物質領域 152）と同一の、または同様の蛍光のレベルを与える。しかしながら、レセプターリガンド相互作用に関して拮抗的または阻害的な活

性を有するテスト化合物の存在は、それらの化合物が設置される、それらの流れの部分（例えば、テスト化合物または対象物質領域154）において相互作用をより低いレベルにする。さらに、蛍光リガンドおよび蛍光なしリガンドに束縛されたレセプタに対する異なる流速は、束縛されておらず、より速く動くレセプタから発生する蛍光の希釈に対応する蛍光のレベルにおいて検出可能な低下を生じる。その後、蛍光の低下は、よりゆっくり動き、束縛されていない蛍光リガンドの蓄積に対応する蛍光156の増加によって続けられる。

いくつかの実施形態では、動作中の緩衝剤および/またはスベージ領域から対象物質領域の反応混合物を分路するための、または抽出するための付加的なチャネルを与えることが望まれる。これは、データ取得段階でこれらの要素が分離さ

れることを可能にしながら、反応中に別個の流体領域内に含まれる反応要素を保つことが望まれる場合であり得る。前に説明したように、適切なスベージ流体領域をサンプル間に取り込むことによって反応チャネルを通して動いている対象物質領域に様々な反応要素を共に保ち得る。そのようなスベージ領域は、一般に選択され、それらの元の対象物質領域内にサンプルを維持する。すなわち、延長された反応期間中でさえ、スベージ領域中でのサンプルのスマア (smearing of the sample) を認めない。しかしながら、この目的は、アッセイの要素の分離（例えば、上記のリガンドレセプタアッセイ）に基づけられるそれらのアッセイと調和しないことがあり得る。また、反応生成物はキャピラリー中で分離されなければならない。従って、流体方向の最初の部分におけるそのような分離を妨げるそれらの要素を取り除くことが望まれ得る。

このサンプルまたは対象物質の分路または抽出を実行するための装置500の一つの実施形態の概略図は、図5に示される。図5に示すように、対象物質またはテスト化合物504は、サンプルチャネル512を介して装置またはチップに導入される。さらに、これらは、適切な注入装置506（例えば、キャピラリーベット）を介して典型的に導入される。イオン強度、および第1スベージ領域508および第2スベージ領域502の長さは、サンプルが反応チャネルを動くのにかかる時間の間、最高の電気泳動移動度を有するそれらのサンプルが第1スベ

ーサ領域508を通過して第2スパーサ領域502へ移動しないように選択される。

レセプタリガンドアッセイシステムを考えると、テスト化合物は、装置500および反応チャネル510の中を通り、そこではテスト化合物は、まずレセプタと組み合わせられる。対象物質領域の形態におけるテスト化合物/レセプタは、インキュベーション区域510aにおける反応チャネルに沿って流される。この最初のインキュベーションに続いて、テスト化合物/レセプタ混合は、標的リガンド（例えば、蛍光リガンド）と組み合わせられると、この混合物は、反応チャネル510の第2のインキュベーション領域510bに沿って流れる。インキュベーション領域の長さ、およびそれぞれのリザーバー514、516、518、520、522およびサンプルチャネル512の終端において印加されるポテンシャルによって決定されるシステムの流速は、蛍光リガンドおよびテスト化合物を有する

レセプタのインキュベーション時間を決定する。レセプタおよび蛍光リガンドを含む溶液のイオン強度は、第1および第2のスパーサ領域を干渉しないように選択され、これらの要素を収容するリザーバーからサンプルチャネルへの物質の流速も、同様に選択される。

レセプタ、蛍光リガンド、およびテスト化合物を含む隔離された対象物質領域は、例えば、リザーバー514、516、518、およびサンプルチャネル512の終端でのポテンシャルの印加によって反応チャネル510に沿って流される。ポテンシャルは、別個のチャネル524の対向する端でもリザーバー520および522に印加され、移動チャネルを横切る正味の流れがゼロになるように移動チャネルの二つの端でポテンシャルを整合させる。対象物質領域が反応チャネル510および移動チャネル526の交差を通過すると、ポテンシャルがリザーバー518および522で浮かぶことが可能になり、リザーバー514、516、520、およびサンプルチャネル512の終端で印加されたポテンシャルは、移動チャネル526を通過して別個のチャネル524に分路される対象物質領域を生じる。いったん別個のチャネルに入ると、元のポテンシャルはすべてのリザーバーに再印

加され、移動チャネル526を通る実際の流体の流れを止める。その後、対象物質の分路は、それぞれの続く対象物質領域で繰り返され得る。別個のチャネル内では、対象物質領域は、反応チャネルの条件とは異なる条件に曝される。例えば、毛細管処理は、差異のある帯電した種または異なる大きさの種などの分離を考慮して、異なる流速が使用され得る。好ましい局面では、対象物質領域は、別個のチャネルに分路され、対象物質を高イオン強度緩衝剤で満たされた毛細管に配置する（すなわち、低イオン強度スベータ領域を取り除く）。それによって、元の対象物質領域の範囲の外側へ様々なサンプル構成要素を分離することが可能になる。例えば、上記のレセプタ/リガンドスクリーンの場合では、レセプタ/リガンド合成物は、リガンド単体とは異なる電気泳動移動度を有し得る。それによって、移動チャネルは、リガンドからの合成物のさらにはっきりとした分離およびその後の検出が可能になる。

特に、反応（例えば、劈開（cleavage）反応、分裂反応、およびPCR反応など）の後で別個の反応生成物に分離することが望まれる場合、そのような改変は、

広く様々な使用法を行う。

C. 連続平行アッセイシステム

さらなる合成システムもまた、本発明の範囲内に生成され得る。例えば、“連続入力平行反応”シオメトリを用いる一つの他の代替実施形態の概略図を、図3に示す。示すように、装置300はさらに、前に説明した平面基板302を含む。基板302の表面には、一連の平行反応チャネル312-324が形成されている。これらの平行反応チャネルのそれぞれに流体的に接続される三つの横方向チャネルもまた示される。三つの横方向チャネルは、サンプル注入チャネル304、任意のシーディング（seeding）チャネル306、および収集チャネル308を含む。さらに、基板およびチャネルは一般に、上で一般的に説明された物質を使用して、およびその寸法で作製される。一連の平行チャネルの点から示し、説明したが、反応チャネルもまた、様々な異なる方針（orientation）で作製され得る。例えば、単一の横方向チャネルに流体的に接続される一連の平行チャネ

ルを与えるよりもむしろ、チャネルは、中央リザーバーに接続して、且つ、中央リザーバーから外側へ急速に伸ばして任意的に作製されるか、または何らかの非平行流 (fashion) で任意的に配置される。さらに、三つの横方向チャネルが示されているが、それよりも少ない横方向チャネルが、例えば生化学システム構成要素が装置内に前もって配置 (predispose) される場所で使用される。同様に、所望の場所で、より多くの横方向チャネルが、所与のスクリーンアッセイにさらなる要素を導入するために任意的に使用される。従って、本発明の連続平行装置は、少なくとも二つの、好ましくは三つ、四つ、五つ以上の横方向チャネルを典型的に含む。同様に、七つの反応チャネルが示されているが、本発明の微小スケール装置が、特定のスクリーニングの必要性に応じて七つ以上のチャネルを含むことができることが容易に認識される。好ましい局面では、装置は、10から約500の反応チャネルを含み、さらに好ましくは20から約2000の反応チャネルを含む。

この装置は、装置に連続的に注入されるテスト化合物をスクリーニングするのに特に有用であり得るが、平行アッセイジオメトリを用いることに有用であり得、いったんサンプルが装置に導入されると、増加したスループットを考慮する。

動作において、別個の対象物質領域におけるテスト化合物は、上記のように分離された装置に連続的に導入される。そして、別個の対象物質領域がサンプルチャネル304と平行反応チャネル310-324との交差に近接するまで、横方向サンプル注入チャネル304に沿って流される。図4A-4Fに示すように、テスト化合物は、個々のビードに固定されて任意的に与えられる。テスト化合物がビードに固定されるそれらの場合では、平行チャネルは、任意的に作製され、反応チャネルとサンプル注入チャネル304との交差でビード残余溜まり (rest Ingwell) 326-338を含む。矢印340は、このサンプル/ビード型での実際の流体の流れを示す。個々のビードが、残余溜まりに留まると、流体は、特定のチャネルが一般に制限されることで流れる。その後、連続する制限されていない流体の流れにおける次のビードは、次に利用可能な残余溜まりに流れ込み、適当な所に留まる。

いったん、平行反応チャネルとサンプル注入チャネルの交差に近接する位置になると、テスト化合物は、流体の流れをそれらのチャネルに流れ下るように再方向付けすることによってそれぞれの反応チャネルに方向付けられる。さらに、テスト化合物がビードに固定されるようなそれらの例では、固定化は、劈開可能なリンカー基（例えば、感光性、酸または塩基反応性のリンカー基）を介して典型的になされる。従って、テスト化合物は、例えば光、酸、塩基、またはテスト化合物を反応チャネルに流れ下るす前に放出作用剤に対して曝すことによって、ビードから放出されるためには典型的に必要とされる。

平行チャネル内では、テスト化合物は、エフェクタ化合物が探し求められる生化学システムと接触される。示すように、生化学システムの第1の化合物は、テスト化合物について説明したのと同様の技術を使用して反応チャネルに配置される。特に、生化学システムは、一つ以上の横方向探索チャネル306を介して典型的に導入される。矢印342は、探索チャネル306内の流体の流れの方向を示す。生化学システムは、任意的に溶液ベースである。例えば、上記または図4A-4Fに示す連続的に流れる酵素/基質、またはレセプタ/リガンド混合物などが、すべてのセルまたはビードベースシステム（そこに固定される酵素/基質システムを有するビード）であり得る。

生化学システムが粒子（例えば細胞あるいはビード）中に取り込まれるこれらの例においては、平行チャネルは粒子保持ゾーン344を含み得る。典型的には、そのような粒子保持ゾーンは、粒子シービング（sieving）あるいは濾過マトリクスを含み得る。例えば、粒子シービングあるいは濾過マトリクスは、粒子からなる物質を保持するが流体が自由に流れることを可能にする多孔性ゼルあるいは微小構造である。この場合の濾過における微小構造の例は、例えば、あらゆる目的のためにその全体をここに参照として取り込まれる、米国特許第5,304,487号に記載されている微小構造を含む。連続システムに関して、より複雑なシステム内の流体の方向付けは、一般に、微小製造された流体方向付け構造（例えばポンプおよびバルブ）を用いて制御され得る。しかし、システムがより複雑になると、システムはたいてい管理不可能になる。したがって、上述した電

気浸透システムは、一般に、このようなより複雑なシステムで流体を制御するのに好適である。典型的には、このようなシステムは、多様性横断チャネルの末端に配置されているリザーバー内に電極を取り入れて、装置を通る流体の流れを制御する。ある局面では、すべての多様性チャネルの末端に電極を含むことが望ましい。このようにすると、一般的により直接的な制御が提供されるが、システムがより複雑になるとまたより管理可能でなくなる。より少ない電極を使用してそれにより電位の複雑さを減少するために、例えば、平行チャネルで同様の速度で2つの流体を移動させることが望ましい平行システムでは、様々な流れチャネルのジオメトリを調整することがしばしば望ましくあり得る。特に、チャネル長が増加すると、チャネルにそった抵抗もまた増加する。このような場合、電極間で流れる距離(flow length)は、選ばれた平行経路に拘らず実質的に同じになるよう設計すべきである。これにより、一般的に横断電界の発生を回避し、したがってすべての平行チャネルにおける流れが同等になることが促される。電極間の抵抗を実質的に同一にするために、チャネル構造のジオメトリを変更してチャネル長を同一にし得、したがって通過する経路に拘らずチャネル抵抗を同一にし得る。あるいは、チャネル抵抗は経路の断面寸法を変えることによって選択的に調整され、それにより取られる経路に拘らず一様な抵抗レベルが生成される。

テスト化合物が個々の平行反応チャネルに引き込まれると、テスト化合物は間

題の生化学システムに接触する。上述のように、特定の生化学システムは、典型的には、そのシステムの相対的な機能を示す流れることが可能なインジケータシステム、例えば、リガンドと呼ばれる発光性基質あるいは蛍光性基質のような溶解可能インジケータ等、あるいは沈殿(precipitate)あるいはビードバウンドシグナル群のような粒子に基づいたシグナル)を含む。流れることが可能なインジケータは、個々の平行チャネルを通して流れ、収集チャネル308に流入する。流入すると、平行チャネル各々からのシグナルは流され、直列に検出ウィンドウ116を通り過ぎる。

図3を参照して、図4Aから図4Fはテスト化合物および「シリアル入力平行反応」装置へ入り、テスト化合物にさらされる生化学システムの成分の注入の進

行と、平行反応チャネルから出力され、検出ウィンドウを通り過ぎた、結果として生じたシグナルの流れを示す概略図である。特に、図4Aは、サンプル注入チャネル304を通るビード346上に固定されたテスト化合物の導入を示す。同様に、生化学システム成分348はシーディングチャネル306を通過して反応チャネル312-324に導入される。テスト化合物とともに装置に導入されるように図示されているが、上述のように、スクリーニングされるモデルシステムの成分は、製造されている間に反応チャネル内に選択的に取り込まれる。再度、そのような成分は、特定のスクリーニング装置の在庫寿命を増加させるために、液状であるいは凍結乾燥した形態で選択的に提供される。

示されるように、生化学システム成分は細胞ベースシステムあるいは粒子ベースシステムにおいて具現化されるが、液体成分はまた以下で示されるように用いられ得る。粒子性成分が反応チャネルに流入すると、上述のように、それらは選択的には、選択的粒子保持マトリクス344に保持される。

図4Bは、ビード346を開放作用剤に曝すことによってビード346からのテスト化合物の開放を示す。示されるように、ビードは適切な光源352からの光に曝される。例えば、光源は、リンカー基を光分解するために十分な波長の光を生成することができ、それによって、光分解可能なリンカー基を介してそれぞれのビードに結合されている化合物を開放する。

図4Cにおいて、開放されたテスト化合物は、矢印354によって示されてい

る平行反応チャネルに流入して、生化学系成分に接触するまで、それを流れる。生化学系成分348は、その後、それらの機能、例えば酵素反応やレセプタ/リガンド相互作用などを、テスト化合物の存在下で実行する。生化学系の様々な成分が、固体サポート上に固定されている場合、サポートからの成分の開放が、システムに対する開始事象を与える。生化学系の機能に対応する溶性シグナル356が、その後生成される(図4D)。先に述べたように、生成されたシグナルのレベルの変動は、特定のテスト化合物が特定の生化学系のエフェクタであることの指標である。これは、シグナル358の明るい陰影で図示されている。

図4E及び図4Fにおいて、溶性シグナルは、その後反応チャネル312〜

324から検出チャネル308の中に流れ出て、検出窓116を過ぎて検出チャネルを流れていく。

再び、検出窓に隣接して位置する上述の検出システムは、シグナルレベルをモニタする。幾つかの実施形態では、テスト化合物に穴を開けたビードが、そこに存在していたテスト化合物を同定するために、オプション的に回収される。これは、典型的には、ビード上へのテスト化合物の合成中に標識グループを導入することによって、達成される。図示されるように、消費された、すなわち、そこからテスト化合物が開放されたビード360は、オプション的に、それに結合していたテスト化合物の同定のために、ポート362を通じてチャネル構造から外に運び出される。その様な同定は、ビードをフラクション収集器に送ることによって、オプション的に装置の外で実施され、フラクション収集器では、ビードに存在するテスト化合物を、標識グループの同定が残留化合物の同定かの何れかによってオプション的に同定する。結合化学法における標識グループの導入は、符号化されたヌクレオチド配列或いは塩素化/フッ素化された芳香族化合物を標識グループとして使用するものとして、以前に説明されている。例えば、公開されたPCT出願第WO95/12608号を参照のこと。或いは、ビードは、オプション的に装置自身の内部の別個のアクセシシステムに選ばれて、そこで同定が実行される。

図6Aは、ビードに基づいたシステムに対して流体に基づいたシステムに使用され得る、「シリアル入力平行反応」装置の代替的な実施形態である。図示されるように、装置600は、一般的に、図3及び図4に示された少なくとも2つの

横方向チャネル、すなわちサンプル注入チャネル604と検出チャネル606を含む。これらの横方向チャネルは、サンプルチャネル604を検出チャネル606に接続する一連の平行チャネル612～620によって、相互に接続されている。

図示されている装置は、流体テスト化合物の流れを反応チャネルに向けるための付加的なチャネルセットも含んでいる。特に、付加的な横方向ポンピングチャネル634は、一連の平行ポンピングチャネル636～646を介して、サン

ルチャネル604に流体的に接続されている。ポンピングチャネルは、その端部にリザーバー650及び652を含む。平行チャネル636～646の交点は、平行チャネル612～620とサンプルチャネル604との交点から、例えば間隔の半分ずつ、ずれている。同様に、横方向ポンピングチャネル608は、平行ポンピングチャネル622～632を介して検出チャネル606に接続されている。再び、平行ポンピングチャネル622～632と検出チャネル606との交点は、反応チャネル612～620と検出チャネル606との交点からずれている。

このシステムの動作の模式的な描寫が、図6B～図6Cに示されている。図示されているように、別個の対象物質領域によってお互いに物理的に孤立している一連のテスト化合物が、先に述べた方法を使用してサンプルチャネル604の中に注入される。密気浸透性システムのために、サンプルチャネル604の端部とリザーバー648とにポテンシャルが印加される。ポテンシャルは、リザーバー650:652、654:656、及び658:660にも印加される。これによって、矢印によって示されているように横方向チャネル634、604、606及び608に沿った流体の流れが発生して、図6Bに示されているように、これらの横方向チャネルを相互接続した平行チャネルアレイの中の正味の流れ (net flow) は零になる。テスト化合物を含む対象物質領域が、図6Bの影を付けた領域によって示されるように、サンプルチャネル604を検出チャネル606に接続する平行反応チャネル612～620に位置合わせされると、これらのチャネルの端部のリザーバーに印加されていたポテンシャルを除去することによって、全ての横方向の流れは停止する。前述のように、チャネルの配置は、基板上のスペースの利用を最大化するように、変更可能である。例えば、サンプルチャネルが直

線状である場合は、反応チャネル間の距離（従って、サイズに制約がある基板で実行され得る平行反応の数）は、対象物質領域の間の距離によって決定 (dictate) される。しかし、これらの制約は、変更されたチャネル配置を含めることによって、除去可能である。例えば、ある局面では、第1及び第2のスペース領域の長さが、蛇形 (serpentine)、方形波状、鋸波状、或いは他の往復的なチャネル

ル配置によって調節され得る。これによって、基板表面の限定された領域に、最大数の反応チャネルを搭載することが可能になる。

平行反応チャネルと位置合わせされると、サンプル、すなわち対象物質は、第1のポテンシャルをリザーバー650及び652に印加し且つ第2のポテンシャルをリザーバー658及び660に印加することによって、平行反応チャネル612～620の中に動かされて、それによって平行ポンピングチャネル636～646を通る流体の流れが、図6Cに示すように、対象物質を平行反応チャネル612～620の中に移動させる。このプロセスの間に、リザーバー648、654、及び656、すなわちサンプルチャネル604の端部には、ポテンシャルは印加されない。平行チャネル636～646及び622～632は、一般に、リザーバー650及び652からチャネル604まで及びリザーバー658及び660からチャネル606までの全チャネル距離、従って抵抗レベルが、どのような経路をとっても同じになるように、その長さが調節される。抵抗は、一般に、チャネル長さ或いは幅を調節することによって、調節され得る。例えば、チャネルは、折り畳み或いは蛇形の配置を含むことによって、長くされ得る。そのようには図示されていないが、この同じチャネル長さを達成するために、チャネル636及び646が最長になり且つ640及び642が最短になって、対称的な流れを創り出し、これによってサンプルをチャネルに移動させる。理解されるように、サンプルがチャネル612～620を通過して流れる間に、個別のチャネル長が同じになるので、これらのチャネル内の抵抗は同じになる。

スクリーニングされるための反応に引き続いて、対象物質領域/シグナル成分は、リザーバーのポテンシャルをフローティング状態にしたままで、リザーバー650及び652からリザーバー658及び660へのポテンシャルを印加することによって、検出チャネル606の中に移動される。対象物質領域/シグナルは、そ

の後に、リザーバー654及び656にポテンシャルを印加し、他の横方向チャネルの端部に適切なポテンシャルを印加して様々な平行チャネルに沿ったいかなる流れをも防ぐことによって、順次移動して検出窓/検出器662を通過する。

直角に交差するチャネルを使用して図示されているが、シリアル入力平行反応

に対しては、他の配置もまた適している。例えば、1997年4月4日に出願された米国特許出願第08/835,101号は、流体の流れの制御のために幅が変化しているパラボラ配置及びチャネルの効果を記載している。簡単に言えば、電気浸透的システムにおける流体の流れは、電極間の電流によって制御され、従ってそれに関係している。流体チャネルの抵抗は、経路の長さ及び幅の関数として変化し、これより、異なった長さのチャネルは異なった抵抗を有する。この抵抗の差が補正されなければ、装置が流体の流れを特定の領域に向けることを妨げ得る横方向の電界が生成される。電流及びこれによる流体の流れは、最小抵抗の経路、例えば最短経路を流れる。この横方向電界の問題は、個別の電氣的システム、すなわち個別の電極を各々の及び全ての平行チャネルの端部で使用するることによって克服されるが、これらの電極を全て組み込んでいる装置の製造、及びこれらの電極の各々に印加される電気ポテンシャルを制御する制御システムは、特に、例えば $1 \sim 2 \text{ cm}^2$ という単一の小規模装置における数百から数千の平行チャネルを取り扱う場合に、複雑になり得る。従って、本発明は、複数の平行チャネルの各々を通る電流が、これらのチャネル或いはチャネルネットワークを通る所望の流れパターンを確保するために適切なレベルであることを確実にすることによって、リアル・平行変換を行う微小流体装置を提供する。これらの目的を達成するための数多くの方法及び基板/チャネル設計が、適切である。

本発明の装置におけるチャネルのパラボラ配置のある実施例では、基板はメインチャネルを含む。一連の平行チャネルが、メインチャネルで終端している。これらの平行チャネルの反対側の端部は、パラボラチャネルに接続している。電極は、これらのパラボラチャネルの端部に配置されている。平行チャネルの各々の中の電流は、平行チャネルの長さを調節することによって一定或いは等値に維持されていて、これによって平行チャネルの各々を各電極に接続するパラボラチャネル構造が得られる。平行チャネル間のパラボラチャネル内の電圧降下は、チャ

ネル幅を調節してこれらの平行チャネルによって生成される平行電流路から得られるチャネル電流の変動を調節することによって、一定に維持される。チャネルのパラボラ設計は、そのデュービー構造と組み合わされて、平行チャネルの全てに沿

った抵抗を等しくして、選択された経路に関わらず等しい流体の流れをもたらす。一般に、チャネルの間の抵抗を所望のように制御することを確実にするためのチャネルの寸法の決定は、良く知られた方法によって実行することができ、一般には基板を通して移動された流体の構成 (make-up) のようなファクターに依存する。

特定の相互作用に影響する化合物の同定のためのスクリーニングアッセイに関して一般的に述べてきているが、本開示に基づけば、上述の微小実験室システムが、生化学系のある成分と特に反応する化合物を、その化合物と生化学系の他の成分との間の相互作用に必ずしも影響することなくスクリーニングするためにも使用され得ることが、容易に理解されるであろう。そのような化合物は、典型的には、例えば診断や治療用途において治療のための標的グループ或いはマーカーグループとして使用される結合化合物 (binding compound)、すなわち放射性核種や染料などを含む。例えば、これらのシステムは、オプショ的に、生化学系の所与の成分に結合する能力に関して、テスト化合物をスクリーニングするために使用され得る。

II. 微小実験室システム

個別のディスクリットな装置に関して一般的に説明してきたが、操作を容易にするために、記載されたシステムは、典型的には、装置の機能を個別ベースに或いは並列の多装屋スクリーニングによってモニタ且つ制御することができる、より大きなシステムの一部である。そのようなシステムの一例は、図 7 に示されている。

図 7 に示されているように、システムは、テスト化合物処理システム 700 を含む。図示されたシステムは、多数の別個のアッセイチップ或いは装置 704 を保持するプラットフォーム 702 を含む。図示されるように、各チップは多数のディスクリットなアッセイチャネル 706 を含み、その各々は、テスト化合物を

装置に導入するための別個のインターフェース 708、例えばピペッタを有している。これらのインターフェースは、テスト化合物を装置の中に浸すために使用されて、第 1 及び第 2 のスペース流体を装置に浸すことによって、区分されてい

る。図示されているシステムでは、チップのインターフェースは、プラットフォームより下に、例えばコンベヤシステム 7 1 2 の上に位置している。例えばマルチウェル微小プレート 7 1 1 の中に含まれているテスト化合物或いは洗淨／第 1 スペーサ流体／第 2 スペーサ流体にインターフェースを接触させるように上昇及び下降する、プラットフォーム 7 0 2 の底部の開口部 7 1 0 に挿入されている。操作にあたっては、多数の異なるテスト化合物を含んでいるマルチウェルプレートが、コンベヤシステムの一環 7 1 4 に積み重ねられる。プレートは、緩衝剤システム 7 2 0 によって満たされ得る適切な緩衝剤リザーバー 7 1 6 及び 7 1 8 によって分離されて、コンベヤの上に置かれる。プレートはコンベヤにステップダウンされて、テスト化合物がチップ中にサンプリングされ、適切なスペーサ流体領域に分散される。テスト化合物をチップに充填した後、マルチウェルプレートは、システムの反対側の端部 7 2 2 に収集或いは積み重ねられる。全制御システムが、例えば図 7 に示されているように、多数の個別の微小実験室システム或いは装置を含む。各装置は、様々なチップ内の流体の流れ及び方向を制御し、且つ様々な装置によって実行されたスクリーニングアッセイから得られるデータをモニタ、記録及び分析するように、適切にプログラムされたコンピュータシステムに、接続されている。装置は、典型的には、コンピュータと個別の装置との間のインターフェースを提供し、コンピュータから装置への動作上の指示を実行し且つ装置からコンピュータへデータを報告する中間アダプタモジュールを通じて、コンピュータに接続される。例えば、アダプタは、一般的には、各装置の上の対応する成分への適切な接続、例えば、電気浸透性の流体の流れ、パワー入力、及び検出システムへの電氣的或いはファイバ光学的なデータ出力、及び装置に組み込まれている他のセンサ成分へのデータリレーに対して使用される、リザーバーをベースにした電極に接続された電氣的リードを含む。アダプタ装置は、環境的な制御を、例えば特定のスクリーニングアッセイを実施するために最適な温度への個々の装置の維持のような、そのような制御が必要とされている個々の装置に

ついて行うこともある。

図示されているように、各装置は、テスト化合物を個々の装置に導入するため

の適切な流体的インターフェース、例えば微小ビベックを備えている。装置は、コンベヤシステムに沿って動かされる多数のマルチウェルプレートからのデスト化合物のサンプリングを可能にするロボットシステムに、容易に取り付けられ得る。中間スぺーサ流体領域は、スぺーサ溶液リザーバーを介して導入されることもできる。

III. 微小チップ中の化学種の劣化を防ぐための流体電極インターフェース

流体或いは他の材料を、本発明の装置を通して電気浸透性に或いは電気泳動的にポンピングするとき、流体中の化学種は、高電圧或いは高電流が印加されたり電圧が長時間に渡って印加されると、劣化され得る。電極からチャネル入口への化学種の動きを遅らせる、或いは電極への化学種の動きを遅らせる設計は、サンプル中での望ましくない化学種の劣化を低減することによって、化学アッセイの性能を向上する。これらの設計は、電圧が長時間に渡って、例えば数時間から数日に渡って印加されるアッセイシステムにおいて、特に好ましい。

本発明のアッセイにおける化学種の劣化を低減する電極設計は、図12、パネルA～Cの考慮によって示されている。その設計は、電極からチャネル入口への化学種の動きを遅らせるか、或いは電極への化学種の動きを遅らせて、化学アッセイの性能を向上する。図12Aは、典型的な電極設計を示しており、電極1211は、流体チャネル1217に流体的に接続されているリザーバー1215に、部分的に浸されている。

比較として、図12Bは、フリット付き電極1219と流体チャネル1223に流体的に接続された流体リザーバー1221との間に、ソルトブリッジを使用している。

図12Cは、拡散を防ぐ低い電気浸透性の流れを有する大きなチャネル1231によって第2の流体リザーバー1229に流体的に接続された第1の流体リザーバー1227に浸された電極1225を設けることによって、化学種の劣化を低減している。

図12Dは、同様の2つの部分を有するリザーバーを与えており、電極1235は、電気浸透性の流れを低減或いは除去するように処理された小さいチャネル1

243によって第2の流体リザーバー1241に流体的に接続された第1の流体リザーバー1237に浸されている。

図12Eは、他の同様な2つの部分を有するリザーバーを与えており、電極1245は、第2の流体リザーバー1251にチャネル1253によって流体的に接続されている第1の流体リザーバー1247に浸されている。チャネル1253は、電気浸透性の流れを低減するために、ゲル、寒天、ガラスビード、或いは他のマトリクス材料などの材料によって満たされている。

図12Fは、変形された2つの部分を有するリザーバーを与えており、電極1255は、第2の流体リザーバー1259にチャネル1261によって流体的に接続されている第1の流体リザーバー1257に浸されている。第2の流体リザーバー1259の中の流体レベルは、第1の流体リザーバー1257の中の流体レベルよりも高く、これが流体を電極1255に向けて移動させる。

図12Gは、第2の変形された2つの部分を有するリザーバーを与えており、電極1265は、第2の流体リザーバー1269にチャネル1271によって流体的に接続されている第1の流体リザーバー1267に浸されている。第1の流体リザーバー1267の直径は十分に小さく、毛管力が流体を第1の流体リザーバー1267の中に引き込む。

クレームされている本発明の精神或いは範囲を逸脱することなく、上記の方法及び装置に対する改変を行うことが可能であって、本発明は、以下のものを含む多数の異なる使用に適用されることができる：

複数のテスト化合物の各々の生化学系に対する効果をテストするための、第1のチャネルと該第1のチャネルに交差する第2のチャネルとを有する第1の基板を少なくとも含み、該チャネルの少なくとも一つが0.1〜500 μ mの範囲の少なくとも一つの断面寸法を有している、微小流体システムの使用。

前記生化学系が、前記チャネルの一つを実質的に連続的に流れて、前記複数のテスト化合物の連続的なテストを可能にする、上述の微小流体システムの使用。

前記第1の基板における複数の反応チャネルの設置が、複数のテスト化合物の

少なくとも一つの生化学的システムへの平行な露出を可能にする、上述の微小流

体システムの使用。

各テスト化合物が隣接するテスト化合物から物理的に分離されている、上述の微小流体システムの使用。

交差するチャネルを有する基板の、テスト材料と生化学系とを該チャネルを使用して一緒に流すことによってテスト材料の生化学系への効果をスクリーニングする際における、使用。

前記チャネルの少なくとも一つが0.1~500 μ mの範囲の少なくとも一つの断面寸法を有している、前述の基板の使用。

前述の微小流体システム或いは基板の何れか一つの使用を利用した、アッセイ

。本発明は、とりわけ、少なくとも1つの表面を有し、その表面に複数の反応チャネルが形成されていて、テスト化合物の生化学系への効果を検出する装置を提供する。前述の装置であって、前記表面に形成された少なくとも2つの横方向チャネルを有していて、前記複数の反応チャネルの各々は、該反応チャネルの各々の第1の点で前記少なくとも2つの横方向チャネルの第1のものに流体的に接続し、該反応チャネルの各々の第2の点で第2の横方向チャネルに流体的に接続している、前述の装置、及び前述の装置を含むアッセイも、また提供される。

実施例

以下の実施例が、制限のためではなく、描写のためだけに提供される。当業者は、本質的に同様の結果をもたらすために変更或いは改変され得る決定的ではない様々なパラメータを、容易に認識するであろう。

実施例1—酵素抑制体スクリーニング

酵素抑制アッセイスクリーニングを実行する効力が、平面チップフォーマットで例証された。図8に示すレイアウトを有する6ポートの平面チップが使用された。チャネルに隣接する数は、各チャネルの長さをミリメートル単位で示す。2つの電圧状態が、チップのポートに印加された。第1の状態(状態1)は、緩衝剤を有する酵素の最上部の緩衝剤ウェルからメインチャネルへの流れをもたらした。

第2の電圧状態（状態2）は、最上部のウェルからの緩衝剤の流れを中断させて、抑制体ウェルからの抑制体を、酵素と共にメインチャネルに導入させる。制御実験は、緩衝剤が抑制体ウェルに置かれた状態でも実施された。

2つの印加電圧状態の各々に対して、各ポートでの印加電圧は以下の通りであった：

| | 状態1 | 状態2 |
|----------------|---------|---------|
| 最上部の緩衝剤ウェル (I) | 1 8 3 1 | 1 4 9 8 |
| 抑制体ウェル (II) | 1 4 9 8 | 1 9 0 0 |
| 酵素ウェル (III) | 1 8 9 1 | 1 8 9 1 |
| 基質ウェル (IV) | 1 4 4 2 | 1 4 4 2 |
| 最下部の緩衝剤ウェル (V) | 1 4 4 2 | 1 4 4 2 |
| 検出/廃棄ウェル (VI) | 0 | 0 |

システムの効力を例証するために、アッセイは、以下の酵素/基質/抑制体試薬を使用して、 β -ガラクトシダーゼの抑制体をスクリーニングするように設計された：

酵素： β -ガラクトシダーゼ (50mM Tris/300 μ g/ml BSA中に180U/ml)

基質：フルオレセイン- β -ガラクトシド (FDG)、400 μ M

抑制体：IPTG 200mM

緩衝剤：20mM Tris、pH 8.5

酵素と基質とは、メインチャネルを通して、それらの各々のポートから両電圧状態で連続的にポンピングされた。抑制体或いは緩衝剤は、電圧状態1と電圧状態2とを交互に変換することによって、メインチャネル中にそれらの各々のウェルから交互に伝達された。メインチャネルの検出端に抑制体が存在しないときには、ベースラインレベルの蛍光生成物が生成された。抑制体の導入で、蛍光シグナルは大きく低減して、酵素/基質相互反応の抑制を示した。抑制体と緩衝剤と

のメインチャネル中への交互の伝達から得られた蛍光データは、図9Aに示されている。図9Bは、図9Aからの2つのデータセグメントを重ねたものであり、抑制体データをコントロール（緩衝剤）データと直接に比較している。コントロ

ールが、明らかに酵素基質混合物の希釈によって生じた蛍光シグナルの小さな変動を示しているのに対して、抑制体スクリーニングは蛍光シグナルの実質的な低減を示し、明らかな抑制を示している。

実施例2—複数テスト化合物のスクリーニング

アッセイスクリーニングが、酵素反応の抑制体を同定するために実行される。使用されるチップの概要は図10に示される。チップは、1 cmのインキュベーションゾーンと4 cmの反応ゾーンとを有する、長さ5 cmの反応チャネルを有している。サンプルチャネルの開始端のリザーバーは酵素溶液で満たされており、側方リザーバーは蛍光性基質で満たされている。酵素及び基質の各々は希釈されて、検出器にて、アッセイシステムに対する線形シグナル範囲で定常状態のシグナルを与える。200 V/cmの印加電界を得るように、ポテンシャルがリザーバーの各々（サンプル源、酵素、基質、及び廃棄）に印加される。この印加電界は、2 mm/秒の流量を生じさせる。所与のサンプルがチップを通過する間に、サンプルの拡散的拡張がある。例えば、小分子サンプル、例えば1 mMの安息香酸の場合には、約0.38 mmの拡散的拡張及び0.4 mmの電気浸透性シフトが見られる。

150 mMのNaCl中にテスト化合物を含む対象物質領域が、150 mMのNaClの第1スベーク領域及び5 mMのホウ酸塩緩衝剤の第2スベーク領域によって区分されたサンプルチャネルに導入される。図示されるサンプルチャネルに一旦導入されると、対象物質領域は、サンプルチャネルの長さを移動して反応チャネルのインキュベーションゾーンに到達するまでに、1.2秒を必要とする。これは、2 mm/秒という流量の結果であるが、サンプルからスベーク化合物までサンプルピペットを移動させるために、1秒を必要とする。これらの中間を許容すると、正味の流量は0.68 mm/秒である。酵素/テスト化合物混合物が、インキュベーションゾーンを通過して、基質が反応チャネルの反応ゾーンに連続的に

流れ込む基質チャネルとの交差点まで移動するために、更に1.2秒必要である。テスト化合物を含む各対象物質領域は、その後反応ゾーンの長さを通過して蛍

光検出器を過ぎるまでに、48秒を必要とする。対象物質領域/スベーク領域の充填のためのタイミングの概略は、図11に示されている。最上部のパネルはチャンネル中での対象物質/第1スベーク領域/第2スベーク領域の分布を示し、下部のパネルは、チャンネルの充填のために必要なタイミングを示している。図示されるように、概略図は、高塩(HS)の第1スベーク流体の充填(浸漬)〔A〕、ビベットのサンプル或いは対象物質への移動〔B〕、サンプル或いは対象物質の浸漬〔C〕、ビベットの高温第1スベーク流体への移動〔D〕、第1スベーク流体の浸漬〔E〕、ビベットの低塩(LS)或いは第2スベーク流体への移動〔F〕、第2スベーク流体の浸漬〔G〕、及び第1のスベーク流体への復帰〔H〕を含む。プロセスは、その後各々の付加的テスト化合物について繰り返される。

一定のベース蛍光信号が、テスト化合物が無い状態で、検出器にて得られる。テスト化合物の導入で、蛍光の減少が、図9A及び図9Bに示されたものと同様に見られるが、それは、時間的遅延に基づいて、特定の個別のテスト化合物に対応する。このテスト化合物が酵素の抑制体と仮に同定され、この点の確認及びこの抑制体の効力の定量的ために、更なるテストが実行される。

以上の本発明は、明瞭化及び理解の目的で、幾らか詳細に説明されてきたが、当業者には、この開示を読むことによって、本発明の真の範囲を逸脱することなく、形態及び詳細における様々な変更がなされ得ることが明らかであろう。本願で引用された全ての刊行物及び特許文書が、全体的にあらゆる目的のために、各々の個別の刊行物或いは特許文書が個別に意味していたのと同じ程度まで、参照によってここに援用される。

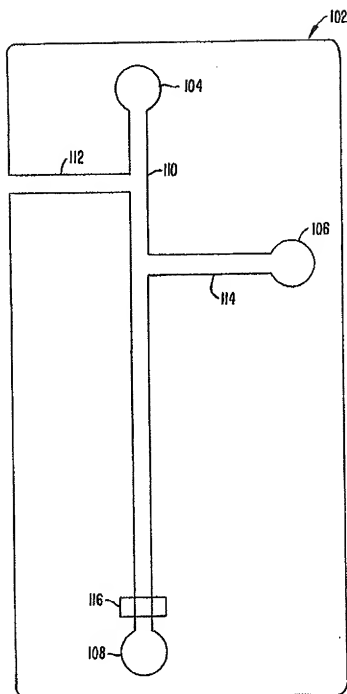


FIG. 1.

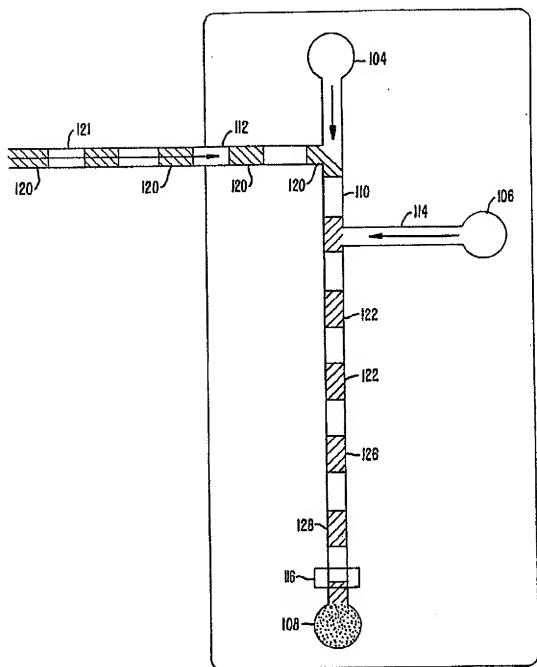


FIG. 2A.

【图2】

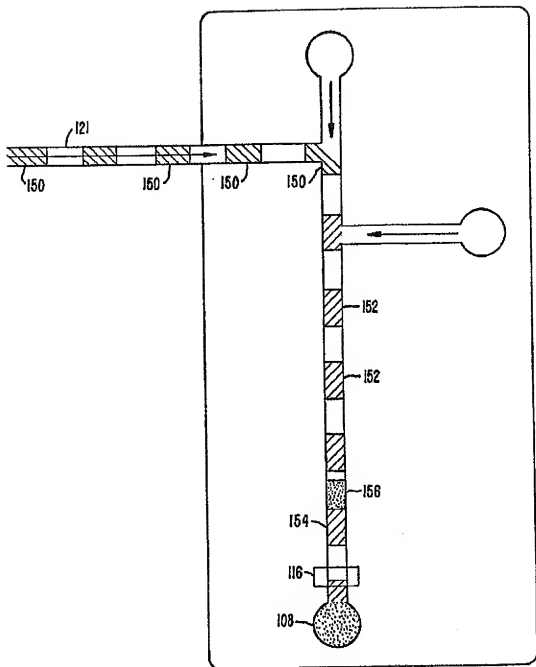


FIG. 2B.

【图3】

300

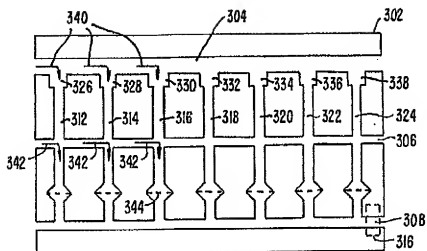


FIG. 3.

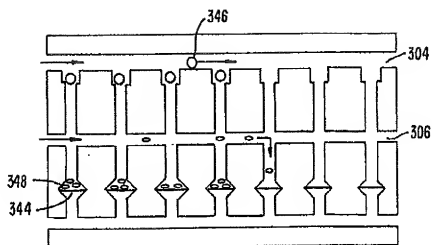


FIG. 4A.

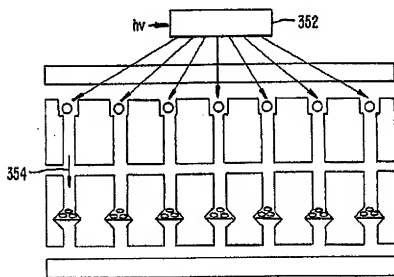


FIG. 4B.

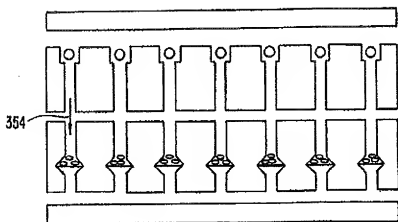


FIG. 4C.

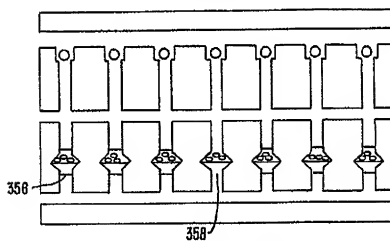
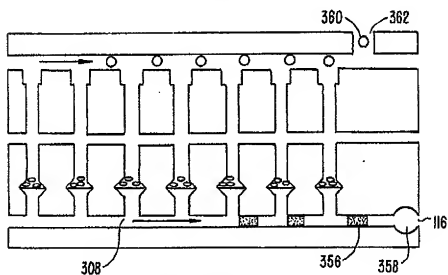
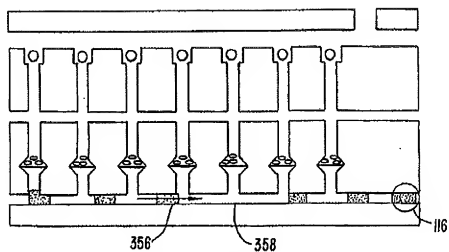


FIG. 4D.



【图 5】

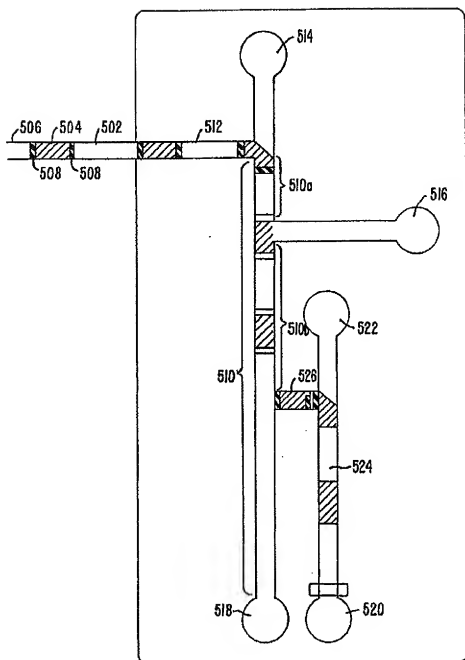


FIG. 5.

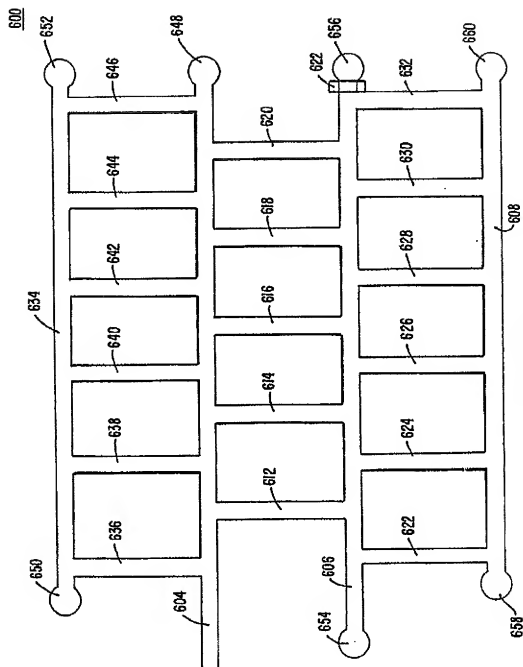


FIG. 6A.

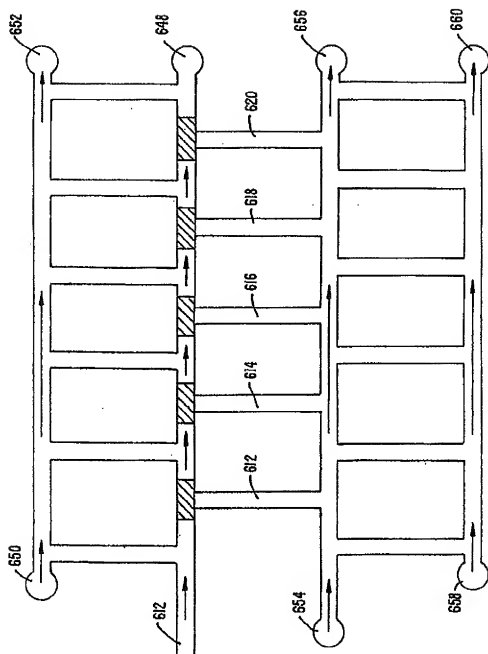


FIG. 6B.

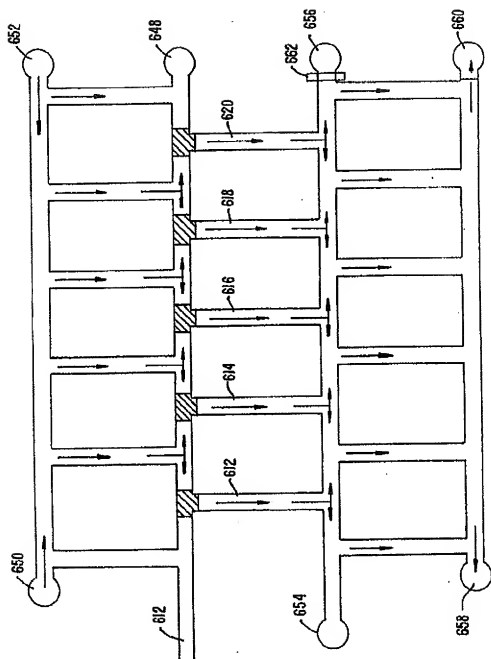


FIG. 6C

【図7】

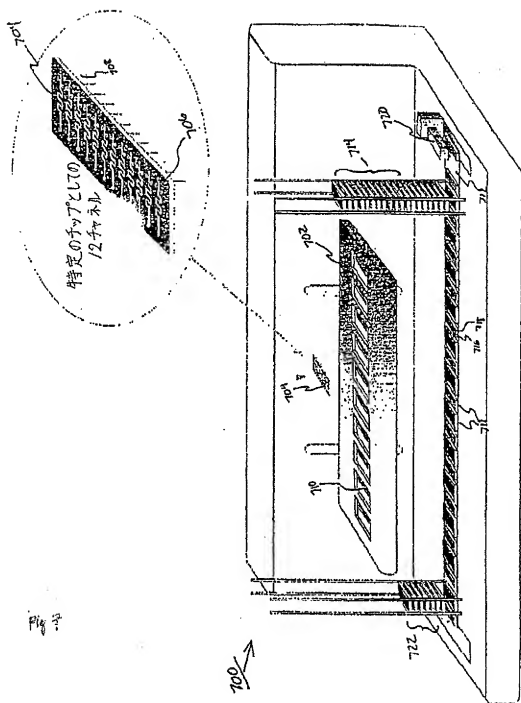


Fig. 7

【図8】

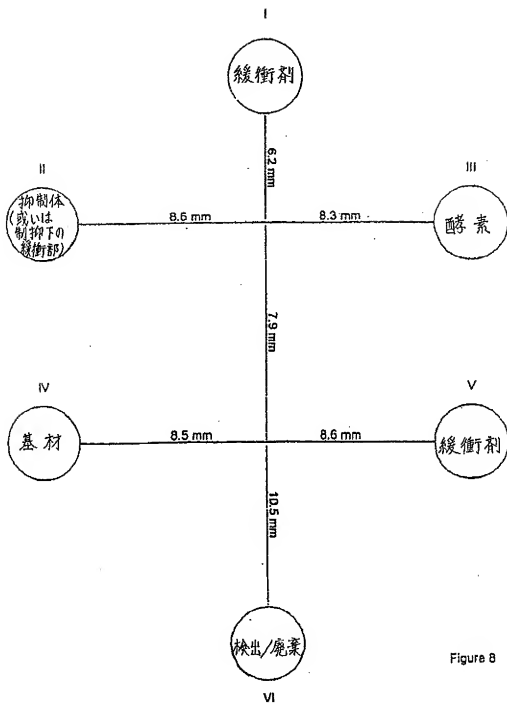


Figure 8

【図9】

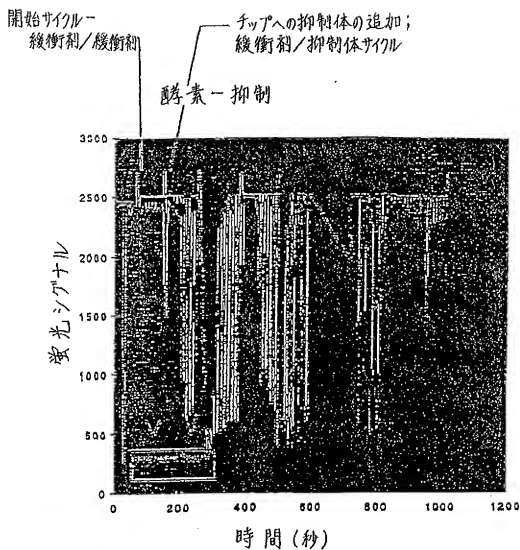


Fig. 9A

【図9】

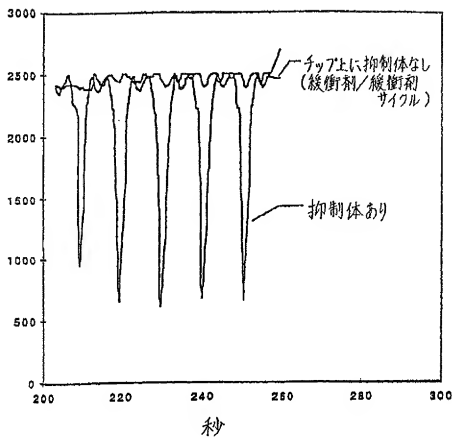


Fig 9B

【図10】

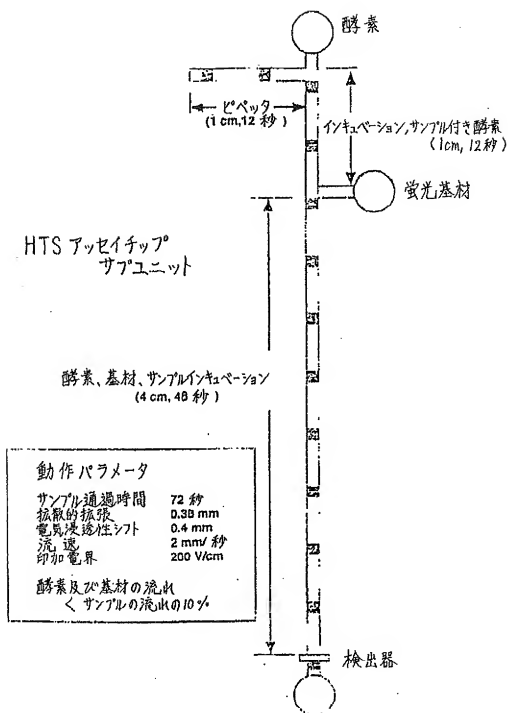
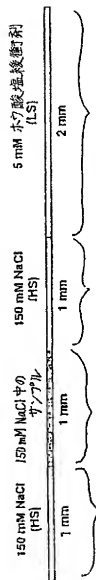


Fig.10

連続フロー-HTSシステムのためのサンプルビペット

キャピラリーチャンネル内のサンプル分布（一定の縮尺の図）



第1スペース 対象物質 第1スペース 第2スペース

サンプル獲得タイミング図



- A 浸漬 (HS)
- B サンプルへの移動
- C サンプル浸漬
- D (HS)への移動
- E 浸漬 (HS)
- F (LS)への移動
- G 浸漬 (LS)
- H (HS)への移動

Fig. 11

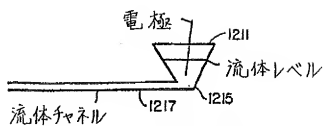


FIG. 12A.

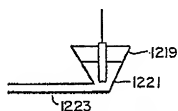


FIG. 12B.

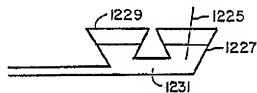


FIG. 12C.

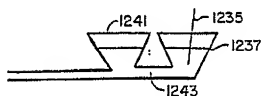


FIG. 12D.

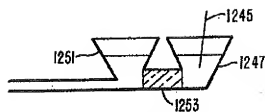


FIG. 12E.

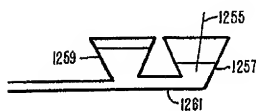


FIG. 12F.

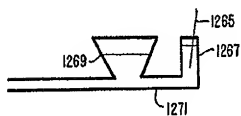


FIG. 12G.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No
PCT/US 97/10694

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 861019/80 86113/00 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 8611

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where pertinent, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim(s). |
|-----------|---|-----------------------------|
| X | WO 96 15450 A (SARNOFF DAVID RES CENTER) 23 May 1996 see page 6, line 7 - line 20; example 3 --- | 1-3, 6-18, 21-97 |
| X | WO 96 04547 A (LOCKHEED MARTIN ENERGY SYSTEMS; RAMSEY J MICHAEL (US)) 15 February 1996 cited in the application see page 8 - page 24; figures 1-3,10,12 see figures 22-25 --- | 1-18,21, 22,24, 33-97 |
| A | WO 96 15576 A (SARNOFF DAVID RES CENTER) 23 May 1996 see page 13 - page 44; figures; example 4 --- | 1-18, 20-97 |
| | -/- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "B" prior art document not published on or after the international filing date
 "C" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another document or other special reason (as specified)
 "D" document referring to an end-use, use, application or other process
 "E" document published prior to the international filing date but later than the priority date entered

- "F" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to provide the state of the art or to provide information
 "G" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "H" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered both alone or more than one such document, each contribution being obvious to a person skilled in the art
 "I" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 October 1997

Date of making of the international search report

12.11.1997

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.O. Box 5818 Patenkenn 2
D-12205 100 Berlin
Tel. (49-30) 940-3000, Fax (49-30) 940-3001
Fax (49-30) 940-3001

Authorized officer

Hodson, N

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inventor: at Application No
PCT/US 97/10894

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | <p>J C HEAVER ET AL: "Gel microdroplets: Rapid detection & enumeration of individual microorganisms by their metabolic activity" BIO/TECHNOLOGY, vol. 6, September 1988, pages 1084-1089, XP002044138 cited in the application -----</p> | |

Form PCT155/2010 (continuation of second sheet) (May 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 97/10894

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1992)

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA 210

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

Claims Nos.: 19

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

The claim merely specifies a result to be achieved, without defining any features of the apparatus which would achieve it. Since the expression "minimizes degradation" has no precise technical meaning in itself, it was not possible to infer from the description what features of the apparatus might have this effect, and a meaningful search was not possible.

Claim 20 was treated for the purposes of the search as though directly dependent on claim 18.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 97/18894

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 9615450 A | 23-05-96 | US 5585069 A | 17-12-96 |
| | | AU 4152396 A | 06-06-96 |
| | | AU 4233796 A | 06-06-96 |
| | | EP 0791238 A | 27-08-97 |
| | | WO 9615576 A | 23-05-96 |
| | | US 5643738 A | 01-07-97 |
| WO 9604547 A | 15-02-96 | US 5593838 A | 14-01-97 |
| | | AU 3150895 A | 04-03-96 |
| | | CA 2196429 A | 15-02-96 |
| | | EP 0775306 A | 28-05-97 |
| WO 9615676 A | 23-05-96 | US 5585069 A | 17-12-96 |
| | | US 5632876 A | 27-05-97 |
| | | US 5603351 A | 18-02-97 |
| | | AU 4152396 A | 06-06-96 |
| | | AU 4233796 A | 06-06-96 |
| | | EP 0791238 A | 27-08-97 |
| | | WO 9615450 A | 23-05-96 |
| | | US 5643738 A | 01-07-97 |
| | | US 5593838 A | 14-01-97 |
| | | AU 4233496 A | 24-12-96 |
| | | AU 4233596 A | 24-12-96 |
| | | WO 9639252 A | 12-12-96 |
| | | WO 9639260 A | 12-12-96 |
| | | AU 6590096 A | 09-01-97 |
| | | WO 9642004 A | 27-12-96 |

Form PCT/ISA/210 (International Family Search) (July 1999)

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

レコード (参考)

G O I N 33/566

G O I N 33/666

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

(72) 発明者 ボウス, ルク ジェイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94025,

メンロ パーク, ヘイト ストリート

311